



1ª Jornada de Pós-Graduação Acadêmica em

Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos

Livro de Resumos



Farmanguinhos/Fiocruz
(Campus Manguinhos)

8 e 9 de novembro de
2023

**LIVRO DE RESUMOS DA I JORNADA DO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PESQUISA
TRANSLACIONAL EM FÁRMACOS E
MEDICAMENTOS DE FARMANGUINHOS**

1ª Edição

Rio de Janeiro

Instituto de Tecnologia em Fármacos (Farmanguinhos) – FIOCRUZ

2023

Ficha Catalográfica elaborada pela
Biblioteca de Medicamentos e Fitomedicamentos / Farmanguinhos / FIOCRUZ - RJ
Bibliotecária Responsável Bruna Beltrão Belinato de Vasconcellos CRB7/6747

J82 Jornada de Pós-graduação Acadêmica em Pesquisa Translacional em
Fármacos e Medicamentos (1. : 2023 : Rio de Janeiro).

Livro de resumos da I Jornada de Pós-graduação acadêmica em
pesquisa translacional em fármacos e medicamentos de Farmanguinhos,
08 e 09 de novembro de 2023, Rio de Janeiro. / Alessandra Lifschitz Viçosa
(org.) ... [et al]. - Rio de Janeiro: Farmanguinhos, 2023.

82 p.

Inclui bibliografia.

ISBN: 978-65-980644-6-4.

1. Eventos Científicos e de Divulgação. 2. Educação de Pós-
graduação. 3. Medicamentos. I. Título.

CDD 363.69

DIREÇÃO

Jorge Souza Mendonça

VICE-DIREÇÃO DE EDUCAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO

Núbia Boechat Andrade

COORDENAÇÃO

Alessandra Lifstitch Viçosa

ORGANIZAÇÃO

Alessandra Lifstitch Viçosa

Ana Paula dos Santos Matos

Ana Clara Brito Maria

Beatriz Hecht Ortiz

Carmem Penido Monteiro

Cintia Maria Lanzarini Gouy

Déborah Freire Monteiro de Oliveira

Eduardo Gomes Rodrigues de Sousa

Gabriella Macedo Princisval

Gustavo Werneck de Souza e Silva

Leonardo Ferreira Santanna

Luciene de Oliveira Moraes

Maíra Martins Haddad de Almeida

Maria da Conceição Avelino Dias Bianco

Orlando Nascimento Terra Junior

SUPERVISÃO E REVISÃO TÉCNICA

Alessandra Lifstitch Viçosa

Ana Paula dos Santos Matos

Mariana Conceição de Souza

REVISÃO FINAL

Alessandra Lifstitch Viçosa

Ana Paula dos Santos Matos

Mariana Conceição de Souza

COMISSÃO CIENTÍFICA

Dra. Alessandra Campbell Pinheiro (Farmanguinhos)
Prof. Dra. Alessandra Lifschitz Viçosa (Farmanguinhos)
Dra. Ana Paula dos Santos Matos (Farmanguinhos)
Prof. Dr. André Luis de Alcantara Guimarães (UFRJ)
Prof. Dr. André Luiz Franco Sampaio (Farmanguinhos)
Prof. Dr. André Mesquita Marques (Farmanguinhos)
Prof^a. Dr^a. Bárbara Abrahim Vieira (UFRJ)
Profa. Dra. Camila Areias de Oliveira (Farmanguinhos)
Profa. Dra. Carmen Penido Monteiro (CDTS- Fiocruz)
Dra. Cristiane França da Costa (Farmanguinhos)
Prof. Dr. Davyson de Lima Moreira (Farmanguinhos)
Dra. Débora Inácio Leite Firmino Marinho (Farmanguinhos)
Profa. Dra. Dulcineia Furtado Teixeira (Farmanguinhos)
Dr. Eduardo Costa Pinto (Farmanguinhos/UNESA)
Prof. Dr. Eduardo Gomes Rodrigues de Sousa (Farmanguinhos)
Prof. Dr. Eduardo Ricci Junior (UFRJ)
Prof. Dr. Eduardo Rodrigues da Silva (IFRJ)
Dr. Fabio Dantas (INT)
Prof. Dr. Francisco Paiva Machado (UFF)
Prof. Dr. François Noël (UFRJ)
Dr. Frederico Silva Castelo Branco (Farmanguinhos)
Dr. Henrique Koch Chaves (Farmanguinhos)
Prof. Dr. Jorge Lima de Magalhães (Farmanguinhos)
Prof. Dr. José Luiz Mazzei da Costa (Farmanguinhos)
Prof. Dr. Julio Cesar Borges (IFRJ)
Dr. Leandro Medeiros Motta (UERJ)
Dr. Leonardo Noboru Seito (Farmanguinhos)
Prof^a. Dr^a. Luisa Luz Marçal (IFRJ)
Prof. Dr. Luiz Cláudio Ferreira Pimentel (Farmanguinhos)
Dra. Marcia Pietroluongo (Farmanguinhos)
Profa. Dra. Mariana Sato de Souza de Bustamante Monteiro (UFRJ)
Profa. Dra. Mônica Macedo Bastos (Farmanguinhos)
Prof. Dr. Renato Sampaio Carvalho (UFRJ)
Profa. Dra. Sabrina Calil-Elias (Farmanguinhos)
Profa. Dra. Simone Sacramento Valverde (Farmanguinhos)
Dra. Tatiana Almeida Pádua (Farmanguinhos)
Dra. Thamara de Carvalho Mendes (Farmanguinhos)
Dr. Thiago Frances Guimarães (Farmanguinhos)
Profa. Dra. Vania Emerich Bucco de Campos (UERJ)
Profa. Dra. Zaida Maria Faria de Freitas (UFRJ)
Profa. Dra. Luciene de Oliveira Morais (UFF)

**AGRADECIMENTO ESPECIAL AOS NOSSOS
PATROCINADORES**

analítica



KCEN



MERCK

PREMIAÇÕES

SESSÃO APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS SELECIONADOS - ORAL MELHOR TRABALHO

“Isolamento cromatográfico de dois ésteres de forbol do látex de *Euphorbia umbellata* (janaúba) ativos na reversão da latência do HIV”

Discente: Gabrielle Pereira Neves

MENÇÕES HONROSAS

“Avaliação *in vitro* da atividade farmacológica de aurelianolídeos isolados de *Athenaea fasciculata var. fasciculata* em linhagens de leucemia humanas”

Discente: Gustavo Wenerck de Souza e Silva

“Desenvolvimento de formulação obtida pela tecnologia de impressão 3D contendo isoniazida para o tratamento da Infecção Latente de Tuberculose em crianças”

Discente: Amanda de Oliveira Esteves Moreira

SESSÃO APRESENTAÇÃO DE TRABALHOS - PÔSTERES

Tecnologia Farmacêutica - MELHOR TRABALHO

“*Analytical Quality by Design* na melhoria de um método analítico estabelecido”

Discente: Flávia Furtado de Mendonça Souza

Tecnologia Farmacêutica - MENÇÃO HONROSA

“Desenvolvimento de medicamento pediátrico antirretroviral dose fixa combinada de lamivudina, zidovudina e nevirapina por tecnologia de impressão 3D”

Discente: Beatriz Borges Correa

Farmacologia - MELHOR TRABALHO

“Avaliação dos receptores canabinóides sobre a ativação de neutrófilos como mecanismo para modulação da MA-ALI experimental”

Discente: Aryella Maryah Couto Correa

Farmacologia - MENÇÃO HONROSA

“Percepção e ações para a promoção da Integridade em Pesquisa no contexto nacional”

Discente: Cíntia Maria Lanzarini Gouy

Química Medicinal - MELHOR TRABALHO

“Modificações estruturais visando a melhoria da solubilidade de um composto líder nitrotriazólico com potente atividade antichagásica”

Discente: Jonathan F. M. Oliveira

Química Medicinal - MENÇÕES HONROSAS

“Avaliação sazonal da variação de teores de 3-desoxiantocianidinas em extratos de quatro morfotipos de *Fridericia chica* (Bonpl.) L. G. Lohmann (Bignoniaceae)”

Discente: Paulo Victor Ramos de Souza

“Criptococose associada ao HIV: novas moléculas híbridas com possível atividade contra dois patógenos e desenvolvimento de um modelo celular de avaliação da coinfeção”

Discente: Íris Firmino

PREFÁCIO

A organização desta jornada científica constituiu um momento singular para compartilhar, debater e refletir sobre os avanços e desafios da área de pesquisa translacional aplicada a fármacos e medicamentos. A 1ª Jornada de Pós-graduação em Pesquisa Translacional de Fármacos e Medicamentos surgiu como uma oportunidade integradora, reunindo alunos, docentes e pesquisadores não apenas do programa, mas também de instituições parceiras nacionais e internacionais. Este evento reflete o compromisso do PPG-PTFM com a colaboração acadêmica e com a formação de redes de pesquisa que visam fortalecer a inovação no setor de saúde. Durante dois dias de evento, conferências, mesas-redondas e apresentações de trabalhos científicos proporcionaram um espaço privilegiado para a troca de conhecimentos e a consolidação de parcerias estratégicas. A presença de empresas parceiras, por meio de stands e interações com os participantes, reforçou a importância da interface entre academia e indústria, contribuindo para a tradução do conhecimento científico em soluções concretas que beneficiem a sociedade. Este livro de resumos é um registro valioso das contribuições apresentadas durante a jornada, evidenciando o talento, a dedicação e a excelência acadêmica dos participantes. Cada trabalho aqui compilado reflete o esforço coletivo para avançar o conhecimento na área de fármacos e medicamentos e reafirma a importância da pesquisa translacional como elo essencial entre a descoberta científica e sua aplicação prática. Que esta jornada seja apenas o início de muitas iniciativas futuras, contribuindo para o fortalecimento da ciência, da tecnologia e da saúde pública no Brasil e no mundo.

Alessandra Lifsitch Viçosa

Coordenadora da 1ª Jornada do programa de pós-graduação em pesquisa translacional em fármacos e medicamentos de Farmanguinhos

INTRODUÇÃO

O Programa de Pós-graduação em Pesquisa Translacional de Fármacos e Medicamentos (PPG-PTFM) de Farmanguinhos, atualmente nível 4 na CAPES, conta com cursos de Mestrado e Doutorado acadêmicos com objetivo de formar mestres e doutores com conhecimento multidisciplinar sobre temas integrados à cadeia de desenvolvimento de fármacos e medicamentos.

Este programa por estar inserido em um ambiente fabril, grande diferencial e fundamental para que o aluno tenha contato com a realidade e as etapas de produção de um medicamento, apresenta um contraponto entre o panorama teórico-prático da pesquisa translacional e o entendimento da cadeia produtiva no setor de saúde. Baseado nisso, a organização de um evento científico do programa visa integrar os alunos e docentes do PPG-PTFM com outros entes da cadeia de descoberta e desenvolvimento de medicamentos.

A I Jornada de Pós-graduação em Pesquisa Translacional de Fármacos e Medicamentos de Farmanguinhos abrangeu não só a pós-graduação como alunos de graduação assim como alunos e docentes de instituições parceiras nacionais como a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Universidade Federal Fluminense (UFF), Universidade Estadual do Rio de Janeiro (UERJ), Instituto Federal do Rio de Janeiro (IFRJ), Universidade de São Paulo (USP) e Instituto Nacional de Tecnologia (INT) e internacionais como a Universidade de Aveiro (UA) e o Instituto de Higiene e Medicina Tropical (IHMT) da Universidade NOVA de Lisboa (UNL) de Portugal, favorecendo a criação de novas parcerias e novos projetos.

O evento foi organizado por alunos do PPG-PTFM com suporte de docentes do programa e contou com dois dias de evento (conferências, mesas redondas, apresentação de trabalhos). Além disso, a participação de empresas parceiras com stands auxiliou a interação indústria-academia.

PROGRAMAÇÃO

Dia 08/11/2023

Horário	Atividade
08:30-09:30h	Recepção dos inscritos e coffee-break de boas-vindas
09:30-10:00h	Cerimônia de abertura Composição da mesa: <u>Dr. Jorge Mendonça</u> – Diretor de Farmanguinhos <u>Dra. Nubia Boechat</u> – Vice-diretora de Educação, Pesquisa e Inovação de Farmanguinhos <u>Dra. Mariana Conceição de Souza</u> – Coordenadora do setor de Educação de Farmanguinhos <u>Dra. Alessandra Lifstich Viçosa</u> – Coordenadora do Programa de Pós-graduação PTFM de Farmanguinhos
10:00-11:30h	Conferência de abertura <u>Profa. Dra. Virgínia Martins Carvalho</u> , Faculdade de Farmácia – UFRJ <u>Título:</u> Melhoramento do uso medicinal da Cannabis através do acesso popular à análise instrumental. <u>Cristiane Motta</u> , Farmanguinhos - FIOCRUZ <u>Título:</u> Apresentação InovaFito Brasil: Plataforma virtual de classificação de projetos
11:30-12:50h	Almoço
12:50-14:50h	Apresentações orais dos alunos Avaliação <i>in silico</i> de análogos do Ponatinibe como potenciais inibidores da enzima BCR-ABL1 contendo a mutação T315I – <u>Lidia Corrêa Parra</u> Desenvolvimento de formulação obtida pela tecnologia de impressão 3D contendo isoniazida para o tratamento da Infecção Latente de Tuberculose em crianças – <u>Amanda de Oliveira Esteves Moreira</u> Efeito analgésico da <i>Schinus terebinthifolius Raddi</i> e ácido gálico na hiperalgesia induzida por zimosan – <u>Sarah Neves Nascimento</u> Avaliação <i>in vitro</i> da atividade farmacológica de aurelianolídeos isolados de <i>Athenaea fasciculata</i> var. <i>fasciculata</i> em linhagens de leucemia humanas - <u>Gustavo Werneck de Souza e Silva</u> Isolamento cromatográfico de dois ésteres de forbol do látex de <i>Euphorbia umbellata</i> (janaúba) ativos na reversão da latência do HIV – <u>Gabrielle Pereira Neves</u> Boas Práticas Cromatográficas: Seu laboratório realiza? – <u>Rodolpho Guilherme Menezes Gama</u>
14:50-15:00h	Coffee-break
15:00-16:30h	Mesa-redonda I – Pesquisa Translacional em Medicamentos Mediador: Dr. Thadeu Estevam Moreira Maramaldo Costa (CDTS – FIOCRUZ). <u>Dra. Rita de Cássia Elias Estrela Marins</u> , Instituto Nacional de Infectologia (INI) – FIOCRUZ & UFRJ.

	<p><u>Título:</u> O papel da farmacocinética clínica na pesquisa translacional de medicamentos: oportunidades e desafios.</p> <p><u>Dra. Laís Bastos da Fonseca,</u> Serviço de Equivalência Farmacocinética (SEFAR) – FIOCRUZ.</p> <p><u>Título:</u> Como ter êxito num estudo de equivalência e bioequivalência farmacêutica? Uma visão de impacto desde o desenvolvimento até o lote industrial.</p> <p><u>Dr. Valber da Silva Frutuoso,</u> Instituto Oswaldo Cruz (IOC) & Presidência – FIOCRUZ.</p> <p><u>Título:</u> Biodiversidade e Saúde no Contexto Fiocruz – Uma abordagem estratégica na busca de novos medicamentos.</p> <p><u>Dra. Michele Georges Issa,</u> Laboratório de Desenvolvimento e Inovação Farmacotécnica (DEINFAR), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, USP – ONLINE.</p> <p><u>Título:</u> A interação que move a formação: A Experiência do DEINFAR nas parcerias com a iniciativa privada e o case VONAU FLASH.</p>
--	---

Dia 09/11/2023

Horário	Atividade
09:00-11:30h	Seção networking - Visita e avaliação de pôster com coffee-break
11:30-12:30h	Almoço
12:30-14:30h	<p>Mesa-redonda II – Hub de Inovação</p> <p>Mediadora: Dra. Sandra Aurora Chavez Perez Rodrigues (Farmanguinhos – FIOCRUZ)</p> <p><u>Dr. Anderson Fragoso dos Santos,</u> Empreendedorismo - FIOCRUZ. <u>Título:</u> Inovação e Empreendedorismo na FIOCRUZ.</p> <p><u>Dr. André Luiz Franco Sampaio,</u> Farmanguinhos - FIOCRUZ.</p> <p><u>Título:</u> Plataformas tecnológicas e serviços integrados: papel na inovação para o CEIS.</p> <p><u>Dr. Frederico Silva Castelo Branco,</u> Farmanguinhos - FIOCRUZ. <u>Título:</u> Síntese orgânica com foco na população: experiências em inovação.</p> <p><u>MSc. Pedro Almeida</u> – Diretor Geral PCI Science Park Aveiro, Universidade de Aveiro, Portugal – ONLINE.</p> <p><u>Título:</u> Hub de Inovação, a experiência do PCI - Creative Science Park – Aveiro Region.</p> <p><u>Cristianne Hideko Bertolami Vicentim</u> – Sócia-Administradora da Wecare Skin – ONLINE.</p> <p><u>Título:</u> Da Ideação ao Mercado: experiência da Wecare no desenvolvimento e lançamento dos produtos inovadores.</p>
14:30-14:45h	Coffee-break
14:45-16:00h	<p>Conferência de encerramento</p> <p><u>Dra. Fátima Nogueira,</u> Unidade de Parasitologia Médica - IHMT - Universidade NOVA de Lisboa (Portugal) – ONLINE.</p> <p><u>Título:</u> Ser ou não ser transmitido, onde está a questão?</p>
16:00-16:30h	Encerramento e Premiação

SUMÁRIO

EIXO TEMÁTICO - TECNOLOGIA FARMACÊUTICA	16
Desenvolvimento de formulações personalizáveis obtidas por impressão 3D para melhoria do tratamento da tuberculose meningoencefálica em crianças	17
Desenvolvimento de formulação obtida pela tecnologia de impressão 3D contendo isoniazida para o tratamento da Infecção Latente de Tuberculose em crianças	18
Desenvolvimento de medicamento pediátrico antirretroviral dose fixa combinada de lamivudina, zidovudina e nevirapina por tecnologia de impressão 3D	19
Desenvolvimento de hidrogéis por Tecnologia de impressão 3D para o tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura.....	20
Caracterização de comprimidos dispersíveis de cloroquina em desenvolvimento com resinas de troca iônica para o tratamento pediátrico da malária	21
Desenvolvimento de nano-políplexos para transfecção gênica <i>in vitro</i> de linfócitos T para a expressão de receptores quiméricos de antígenos (CAR-T)	22
Estudos de formulações farmacêuticas com diferentes hidrocoloides para obtenção de pastilhas gomosas impressas em 3D.	23
Estudo de compatibilidade entre dissulfiram, benznidazol e excipientes para o tratamento da doença de chagas.....	24
Identificação e qualificação de impurezas <i>in silico</i> em comprimidos de Primaquina	25
Encapsulação simultânea de nanopartículas magnetopoliméricas para terapia fotodinâmica do câncer	26
Cenário regulatório da impressão 3D de medicamentos no Brasil: como superar lacunas sem prejudicar o desenvolvimento da tecnologia?.....	27
A importância da atualização da RDC que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos	28
Pirazinamida, um medicamento contemporâneo de primeira linha no tratamento da tuberculose.	29
Impacto da Aplicação Retrospectiva do <i>Analytical Quality By Design</i> na Melhoria de um Método Analítico Estabelecido.....	30
Desenvolvimento de método de dissolução para ritonavir extrusado a partir de modelagem <i>in silico</i> e ensaios <i>in vitro</i>	31
Plano de ação para aprimoramento de resultados de dissolução em um laboratório de desenvolvimento analítico	32
Estabelecimento de <i>Analytical Target Profile</i> para método de dissolução de comprimidos orodispersíveis Isoniazida com Rifampicina	33
Desenvolvimento de método de dissolução para comprimidos de nevirapina: uso do planejamento experimental na avaliação da robustez e determinação da especificação.	34

Boas Práticas Cromatográficas: Seu laboratório realiza?	35
EIXO TEMÁTICO - FARMACOLOGIA	36
Análise de dados relacionados ao tratamento medicamentoso das Jornadas do Paciente com Doença Inflamatória Intestinal.....	37
Estudo do efeito do galato de metila sobre a atividade de neutrófilos humanos <i>in vitro</i>	38
Avaliação dos receptores canabinoides sobre a ativação de neutrófilos como mecanismo para a modulação da MA-ALI experimental	39
Avaliação <i>in vitro</i> da atividade farmacológica de aurelianolídeos isolados de <i>Athenaea fasciculata</i> var. <i>fasciculata</i> em linhagens de leucemia humanas.....	40
Indução de senescência prematura em células de glioblastoma humano A-172 por temozolomida.....	41
Ensaio clínico de desenvolvimento de fármacos e imunobiológicos para o tratamento de câncer de mama triplo negativo: biomarcadores e potenciais tratamentos.....	42
Efeitos biológicos <i>in vitro</i> de preparações homeopáticas de <i>Viscum album</i> em células de túbulo proximal de rim de porco.....	43
Efeito analgésico da <i>Schinus terebinthifolius</i> Raddi e ácido gálico na hiperalgesia induzida por zimosan.....	44
Efeito do galato de metila na artrite causada por chikungunya vírus em camundongos	45
Percepção da Integridade em Pesquisa por profissionais que atuam em pesquisa na Fundação Oswaldo Cruz.....	46
EIXO TEMÁTICO - QUÍMICA MEDICINAL.....	47
Investigação <i>in silico</i> do comportamento dinâmico da enzima cruzafina nas formas apo e complexada com inibidores da classe carbamoil-imidazol.....	48
Avaliação <i>in silico</i> de análogos do Ponatinibe como potenciais inibidores da enzima BCR-ABL1 contendo a mutação T315I.....	49
Preparo e caracterização de polímeros de boro com muitas potencialidades em Química medicinal.....	50
Avaliação da atividade anti-inflamatória de naftoquinonas por inibição do receptor P2X7 ..	51
Química medicinal de organometálicos de boro obtidos da reação de aldeídos aromáticos com diferentes nucleófilos	52
Uso de Redes Moleculares na Investigação de Metabólitos de <i>Piper aduncum</i> L.	53
Óleo essencial de <i>Lavandula angustifolia</i> Mill.: Sazonalidade e avaliação frente aos vírus DENV-2 e ZIKV.....	54
Biotransformação de monoterpenos por <i>Saccharomyces cerevisiae</i> para a produção de 2-feniletanol	55
Isolamento cromatográfico de dois ésteres de forbol do látex de <i>Euphorbia umbellata</i> (janaúba) ativos na reversão da latência do HIV	56
Impacto da irradiação UV-C no perfil metabólico do óleo essencial de <i>Piper aduncum</i> L. cultivado no Sudeste do Brasil.....	57

Avaliação antileishmania e química do extrato metanólico das folhas de <i>Alpinia zerumbet</i> (Pers.) B. L. Burtt & R. M. Smith.....	58
Avaliação do potencial antimicrobiano do látex de <i>Croton lechleri</i> Mull. Arg. contra espécies de <i>Sporothrix</i>	59
Avaliação antileishmania de preparados com extratos aquosos do gênero <i>Himatanthus</i>	60
Potencial terapêutico de fração rica em flavonoides de <i>Fridericia chica</i> na pneumonia murina	61
Atividade antiproliferativa <i>in vitro</i> e <i>in silico</i> de <i>p</i> -cimeno e seus derivados 7-oxigenados sobre linhagens tumorais humanas	62
Proteases e Inibidores de Proteases de <i>Cajanus cajan</i> L. Millsp. como Agentes Terapêuticos para as Leishmanioses.....	63
Avaliação sazonal dos teores de 3-desoxiantocianidinas em quatro morfotipos de <i>Fridericia chica</i> (Bonpl.) L.G.Lohmann (Bignoniaceae)	64
Metodologias para o isolamento de metaloproteases de <i>Canavalia ensiformis</i>	65
Planejamento, síntese e avaliação de novos derivados 3-nitro-1,2,4-triazólicos como possíveis agentes anti- <i>T. cruzi</i>	66
Síntese e Avaliação Tripanocida e Mutagênica de Nitroimidazóis Substituídos	67
Busca por novos ITRNN como potenciais inibidores do HIV-1	68
Síntese e Avaliação Biológica de Tiazóis Derivados da Cânfora.....	69
Derivados etinil-benzamidas como potenciais inibidores da proteína tirosina cinase BCR-ABL1.....	70
Síntese e potencial antiagregante plaquetário de novos derivados β -hidroxi sulfetos obtidos a partir do epóxido do β -pineno.....	71
Criptococose associada ao HIV: novas moléculas híbridas com possível atividade contra os dois patógenos e desenvolvimento de um modelo celular de avaliação da coinfeção.....	72
Desenvolvimento de novos potenciais multialvos para a inibição da replicação do HIV-1... 73	73
Novas tiouréias derivadas da primaquina com possível atividade antiplasmódica.	74
Modificações Estruturais Visando a Melhoria da Solubilidade de um Composto Líder Nitrotriazólico com Potente Atividade antichagásica.....	75
Benznidazol como importante protótipo para a busca de novos análogos e derivados com potencial atividade contra <i>Trypanosoma cruzi</i>	76
Síntese de novas sulfonamidas derivadas da primaquina com potencial atividade antiplasmódica.	77
Síntese do Building Block Nitroimina da Cânfora na escala de Multigramas	78
Novos derivados 4-oxo-quinolínicos com possíveis mecanismos de ação multialvos contra <i>Mycobacterium tuberculosis</i>	79
Síntese e avaliação biológica de novas <i>n</i> - acilidrazonas benzimidazólicas como potenciais agentes antichagásicos	80

Investigando a atividade moluscicida de derivados 3-aryl-2-cianoacrílicos com vistas ao controle do <i>Biomphalaria glabrata</i>	81
Híbridos do imatinibe com indolinonas: desenvolvimento de potenciais inibidores para o tratamento da Leucemia Mieloide Crônica.....	82

**EIXO TEMÁTICO - TECNOLOGIA
FARMACÊUTICA**

Desenvolvimento de formulações personalizáveis obtidas por impressão 3D para melhoria do tratamento da tuberculose meningoencefálica em crianças

Rosa Junior, Abel Alves¹; Dos Santos Matos, Ana Paula²; Martins, Mara Guadalupe Freire³; Viçosa, Alessandra Lifstitch⁴

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental (LabFe), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. abel.junior@fiocruz.br

2) Laboratório de Farmacotécnica Experimental (LabFe), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. paula.matos@fiocruz.br

3) Universidade de Aveiro. Campus Universitário de Santiago, 3810-193 Aveiro, Portugal Santiago - Aveiro, - Portugal. maragfreire@ua.pt

4) Laboratório de Farmacotécnica Experimental (LabFe), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. alessandra.vicosa@fiocruz.br

A tuberculose é uma doença de prevalência mundial e de grande importância epidemiológica. A falha dos tratamentos em especial da tuberculose meningoencefálica (TBM) em crianças menores de 10 anos é impactada por características de um dos importantes insumos farmacêutico ativo (IFA) utilizado no difícil e longo tratamento desta doença, como sua solubilidade, permeabilidade à barreira hematoencefálica, bem como sua palatabilidade, especialmente importante nos tratamentos para o público pediátrico [1]. O campo da impressão 3D vem sendo estudado em diversas áreas, dentre elas, a farmacêutica visando as possibilidades de personalização das formulações [2,3]. Adicionalmente, o campo de estudo de solventes eutéticos profundos (SEPs) está continuamente em expansão em função de suas propriedades únicas e excepcionais que encontram aplicações nas ciências farmacêuticas através, principalmente, da melhoria da biodisponibilidade de IFAs [4,5]. Baseado neste contexto, o presente projeto objetiva desenvolver formulações personalizáveis e palatáveis através da tecnologia de impressão 3D para melhoria do tratamento da tuberculose meningoencefálica em crianças menores de 10 anos. Serão realizadas as caracterizações dos insumos de partida, estudos de compatibilidade entre fármacos e excipientes, desenvolvimento de metodologia analítica, preparo e caracterização dos comprimidos dispersíveis por tecnologia de manufatura aditiva (impressão 3D) dos fármacos isolados e combinados, avaliação em língua eletrônica, preparo e caracterização dos híbridos IFA/SEP e avaliação biológica *in vitro* como os ensaios de citotoxicidade e permeabilidade. Espera-se obter *printlets* híbridos contendo os IFAs de interesse em SEP, devidamente caracterizados e com atividade biológica *in vitro* verificada. Este projeto pretende contribuir de forma importante para o campo da manufatura aditiva com uma abordagem translacional.

Palavras-chave: tuberculose meningoencefálica, impressão 3D, SEP, personalização de medicamentos

Referências:

[1] BRASIL. Ministério da saúde. Secretaria de Vigilância em saúde. Departamento de Vigilância das doenças transmissíveis. Manual de Recomendações para o controle da tuberculose no Brasil / Ministério da saúde, secretaria de Vigilância em saúde, departamento de Vigilância das doenças transmissíveis. – Brasília: Ministério da saúde, 2019. 364p.

[2] CHATZITAKI, A-T, Emmanouela Mystirido, Nikolaos Bouropoulos, Christos Ritzoulis⁴, Christina Karavasili¹ and Dimitrios G. Fatouros, Semi-solid extrusion 3D printing of starchbased soft dosage forms for the treatment of paediatric latent tuberculosis infection. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 2021, Vol XX, 1–9

[3] GENINA, N, Boetker, J. P; Colombo, S; Harmankaya, N; Rantanen, J; Bohr, A - Anti-tuberculosis drug combination for controlled oral delivery using 3D printed compartmental dosage forms: From drug product design to in vivo testing. *Journal of Controlled Release* Volume 268, 28 December 2017, Pages 40-48

[4] OLIVEIRA F, Santos F, Duarte ARC. Therapeutic Deep Eutectic Systems towards the Treatment of Tuberculosis and Colorectal Cancer: Opportunities and Challenges. *Molecules*, 2021

[5] SANTOS, F.; P.S. Leitão, M.L.; C. Duarte, A.R. Properties of Therapeutic Deep Eutectic Solvents of L-Arginine and Ethambutol for Tuberculosis Treatment. *Molecules* 2019, 24, 55.

Desenvolvimento de formulação obtida pela tecnologia de impressão 3D contendo isoniazida para o tratamento da Infecção Latente de Tuberculose em crianças

Moreira, Amanda de Oliveira Esteves^{1,2}; Azevedo Neta, Lêda Maria Santana¹; Nele, Marcio³; Maniglia, Bianca Chierigato⁴; Correa, Beatriz Borges¹; Pietroluongo, Márcia¹; Matos, Ana Paula dos Santos¹; Kelly, Luiz Augusto Deodoro¹; Cabral, Lucio Mendes², Viçosa, Alessandra Lifschit¹

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. amanda.esteves@fiocruz.br & alessandra.vicosa@fiocruz.br

2) Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil. lmcabral2@yahoo.com.br

3) Laboratório de engenharia de coloides, Instituto Alberto Luiz Coimbra de Pós-graduação e Pesquisa de Engenharia (COPPE), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

4) Instituto de Química de São Carlos (IQSC), Universidade de São Paulo (USP), São Carlos, SP, Brasil.

O plano nacional pelo fim da tuberculose como problema de saúde pública do Ministério da Saúde tem como meta a redução de incidência e da mortalidade da tuberculose (TB) até o ano de 2035. Dentre os principais desafios está o tratamento da infecção latente pelo *Mycobacterium tuberculosis* (ILT), principalmente entre crianças menores de 5 anos [1]. Tal público é órfão de formulações em dose e sabor adequados que prejudicam o tratamento. Além disso, o número de casos/ano não atende os volumes mínimos da fabricação industrial autorizada pela ANVISA que produz além do necessário, gerando desperdícios [2]. A impressão 3D promete revolucionar a área de prototipagem de novos medicamentos pediátricos já que permite a personalização do tratamento, incremento de palatabilidade, produção sob demanda e até mesmo no ponto de distribuição do medicamento gerando menos resíduos. Este estudo utiliza a isoniazida (INH) como fármaco modelo e a aplicação da tecnologia de impressão 3D por extrusão semissólida (I3D/ESS) para criar formas farmacêuticas personalizadas [3]. O objetivo é desenvolver um medicamento palatável contendo INH via I3D/ESS para melhorar o tratamento pediátrico da ILTB. A metodologia envolveu a caracterização da INH e os excipientes escolhidos a partir de revisão de literatura. Pastilhas gomosas foram preparadas contendo INH, edulcorantes, água e agentes gelificantes, com 50 mg/g de INH. O bulk foi caracterizado quanto ao perfil reológico através de curva de escoamento e rampa de temperatura para previsão da performance de impressão. Testes com os polímeros gelatina e goma carragena foram realizados. A impressão 3D foi realizada a partir da combinação dos dois agentes gelificantes usando a impressora farmacêutica Medimaker® módulo semissólido. Os impressos obtidos (pastilhas gomosas) foram avaliados quanto seu aspecto físico, massa ($\pm 7,5\%$) e espessura e estavam de acordo com os padrões farmacopeicos [4]. A gelatina demonstrou baixa tixotropia e a goma carragena muito friável durante redução da temperatura na rampa. Os polímeros juntos, geraram filamentos contínuos e impressos mais fidedignos ao modelo virtual, com reprodutibilidade de peso e tamanho entre as unidades. A formulação e condições de processo propostos mostraram-se favoráveis na obtenção dos impressos, no entanto, mais ensaios físico-químicos, de textura e de estabilidade devem ser realizados, para avaliação mais completa da viabilidade dos impressos. Agradecimentos: CAPES e FAPERJ.

Palavras-chave: Tuberculose Latente, Formulações pediátricas, Impressão 3D, Extrusão semissólida, Pastilha gomosa.

Referências:

[1] BRASIL. MS. Brasil Livre da Tuberculose. Brasília 2021. Disponível em: <www.saude.gov.br/tuberculose>;

[2] BRASIL. MS. Doses Fixas Pediátricas - comprimidos dispersíveis para tratamento da tuberculose em crianças menores de 10 anos. Brasília, 2019. Disponível em: <http://antigo-conitec.saude.gov.br/images/Relatorios/2019/RELATORIO_RH-E-RHZ_DOSE-FIXA-COMBINADA_TB-474_2009_FINAL.pdf>;

[3] SEOANE-VIAÑO, I. *et al.* Semi-solid extrusion 3D printing in drug delivery and biomedicine: personalised solutions for healthcare challenges. J Of C R, v. 332, p. 367-389, abr. 2021.

[4] BRASIL. ANVISA. Farmacopeia Brasileira. v. 2. Brasília, 2019. Disponível em: <<https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/farmacopeia/farmacopeia-brasileira>>.

Desenvolvimento de medicamento pediátrico antirretroviral dose fixa combinada de lamivudina, zidovudina e nevirapina por tecnologia de impressão 3D

Correa, Beatriz Borges¹; Ramos, Rodrigo Fonseca da Silva¹; Moreira, Amanda de Oliveira Esteves^{1,2}; Azevedo Neta, Lêda Maria Santana¹; Matos, Ana Paula dos Santos¹; Pietrolungo, Marcia¹; Kelly, Luiz Augusto Deodoro¹; Viçosa, Alessandra Lifstitch¹.

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

2) Laboratório de Tecnologia Farmacêutica, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil. beatrizborges8267@gmail.com e alessandra.vicosa@fiocruz.br

De acordo com o boletim epidemiológico HIV/AIDS 2020 do Ministério da Saúde, no Brasil foram identificados em crianças até 14 anos, 6.293 óbitos tendo a aids como a causa básica, no período de 1980 a junho de 2020 [1]. No mundo, estima-se que mais de 5 milhões de crianças morrem antes de completarem 5 anos, pois os medicamentos ofertados são com terapias antigas, a dosagem é inadequada ao tratamento prescrito, não são palatáveis e assim leva a uma baixa adesão e efetividade no tratamento [2]. A tecnologia de impressão 3D viabiliza a produção de medicamentos com formulações personalizadas, palatáveis, multifármacos e sob demanda [3]. Uma forma farmacêutica sólida promissora para o público infantil é a pastilha gomosa, flexível e macia, contendo mistura de polímeros [4]. O objetivo do trabalho é desenvolver um medicamento oral protótipo de dose fixa combinada contendo lamivudina, zidovudina e nevirapina para pacientes pediátricos utilizando a tecnologia de impressão 3D. A metodologia envolveu a execução de análises de caracterização físico-química dos insumos farmacêuticos ativos (IFAs) de acordo com compêndios oficiais ou por metodologias analíticas internas. Em seguida, foram desenvolvidas formulações contendo os fármacos individualmente e os 3 juntos pela técnica de gelificação dos hidrocolóides carragena Kappa e gelatina. A dosagem de cada fármaco foi baseada no protocolo do Ministério da Saúde para pacientes com idade entre 14 dias e 3 anos [5]. Após o preparo da formulação, há a formação de uma base semissólida que é um intermediário do processo, o qual é envasado na seringa e extrusado na impressora farmacêutica 3D, M3DIMAKER®, com bico de 1,2 mm. Após a impressão, os protótipos foram avaliados pelo seu aspecto físico, massa e dimensões. Os resultados da caracterização dos IFAs indicam que os mesmos estão adequados para o uso no desenvolvimento do medicamento. Os produtos intermediários das formulações apresentaram viscosidade adequada, aparência lisa e homogênea. Os impressos apresentaram formato adequado, coerente com o modelo virtual, e reprodutibilidade de massa e tamanho entre as amostras obtidas. A formulação contendo os 3 fármacos e condições de processo propostos mostraram-se favoráveis na obtenção dos impressos, no entanto, mais ensaios físico-químicos, de textura e de estabilidade devem ser realizados, para avaliação mais completa da viabilidade da forma farmacêutica final. Agradecimentos: Faperj.

Palavras chave: Impressão 3D; AIDS; Medicamento Pediátrico.

Referências:

[1] BRASIL. Boletim epidemiológico – HIV/Aids 2020. Ministério da Saúde, dez. 2020. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/pt-br/pub/2020/boletim-epidemiologico-hiv-aids-2020>.

[2] WORLD HEALTH ORGANIZATION AND UNITAID. Innovative delivery systems for paediatric medicines: technology landscape. Geneva, 2020. Disponível em: <https://unitaid.org/assets/Innovative-deliverysystems-for-paediatric-medicines-technology-landscape.pdf>.

[3] KHALED AS *et al.* 3D printing of tablets containing multiple drugs with defined release profiles. *Int J Pharm.* 2015 Oct 30;494(2):643-650. Disponível em: 10.1016/j.ijpharm.2015.07.067.

[4] ANVISA. Farmacopéia Brasileira, 6ª edição, volume 2, 2019.

[5] BRASIL. Protocolo clínico e diretrizes terapêutica para manejo da infecção pelo HIV em crianças e adolescentes. Ministério da Saúde, Brasília – DF, 2018. Disponível em: <http://www.aids.gov.br/ptbr/pub/2017/protocolo-clinico-e-diretrizes-terapeuticas-para-manejo-da-infeccao-pelo-hiv-em-criancas-e>.

Desenvolvimento de hidrogéis por Tecnologia de impressão 3D para o tratamento de feridas: uma revisão integrativa da literatura

Ortiz, Beatriz Hecht¹; Kelly, Luiz Augusto Deodoro¹; Matos, Ana Paula dos Santos;¹ Viçosa, Alessandra Lifstitch¹

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. beatrizhecht11@gmail.com; paula.matos@fiocruz.br; alessandra.vicosa@fiocruz.br

Hidrogéis vêm sendo explorados no tratamento e cicatrização de feridas devido ao seu potencial em absorver água, fornecer um ambiente semelhante à matriz extracelular, permitir permeabilidade ao oxigênio, serem flexíveis, e poderem ser preparados utilizando polímeros biodegradáveis e biocompatíveis. Porém, seu uso pode ser dificultado devido a uma baixa propriedade mecânica e estrutural [1,2]. Assim, para aprimorar o uso dos hidrogéis, a Impressão 3D vem sendo uma tecnologia inovadora estudada com a finalidade de fornecer propriedades mecânicas mais resistentes [3]. No caso de feridas tóxicas, o uso da impressão 3D, permite um tratamento personalizado em tamanho e formato do curativo, promovendo uma liberação local do fármaco com dose específica [4]. Baseado nisso, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão integrativa da literatura, buscando formulações de hidrogéis produzidos pela técnica de impressão 3D para serem utilizados como curativos no tratamento de feridas. A busca foi realizada nas bases de dados *Web of Science* e *Scopus*, usando as seguintes palavras-chave: “*hydrogel*” AND “*3D printing*” AND “*wound healing*”. Para a base de dados *Web of Science* também foi realizada uma busca empregando: “*hydrogel*” AND “*3D printing*” AND “*antibiotic*”. Foram coletadas informações sobre as diferentes composições poliméricas empregadas, técnicas de preparo da formulação, parâmetros de impressão e tipos de impressora 3D, caracterização físico-química dos hidrogéis e estudos *in vitro* e *in vivo*. O levantamento bibliográfico demonstrou a possibilidade da produção de hidrogéis por impressão 3D utilizando polímeros com propriedades cicatrizantes como alginato, quitosana e gelatina. Alguns estudos incorporaram fármacos (antimicrobianos, por exemplo) para proporcionar um sistema de liberação com os impressos apresentando design específico de acordo com o tipo e tamanho da ferida. Alguns estudos realizaram testes que puderam aprimorar parâmetros de impressão, garantindo melhor qualidade e precisão do hidrogel impresso. Estudos *in vitro* demonstraram ausência de citotoxicidade dos hidrogéis impressos. Além disso, estudos com fármacos apresentaram um sistema de liberação prolongada, sendo uma alternativa interessante para promover o tratamento de feridas. Estudos *in vivo* comprovaram eficácia na cicatrização de feridas, demonstrando que um hidrogel impresso em 3D pode ser um bom candidato para utilização como curativo no tratamento de feridas. Agradecimentos: CAPES, CNPq, Merck.

Palavras-chave: impressão 3D; hidrogéis; tratamento de feridas

Referências:

- [1] Valipour, F; Rahimabadi, EZ; Rostamzad, H. Preparation and characterization of wound healing hydrogel based on fish skin collagen and chitosan cross-linked by dialdehyde starch. *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 253, 126704, 2023.
- [2] Teoh, JH *et al.* Fabricating scalable, personalized wound dressings with customizable drug loadings via 3D printing. *Journal of controlled release: Official Journal of the Controlled Release Society*, vol. 341, p. 80-94, 2022.
- [3] Alizadehgiashi, M *et al.* Multifunctional 3D-Printed Wound Dressings. *ACS nano*, vol. 15,7, p. 12375-12387, 2021.
- [4] Brites, A *et al.* Fabrication of antibacterial and biocompatible 3D printed Manuka-Gelatin based patch for wound healing applications. *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 632, 122541, 2021.

Caracterização de comprimidos dispersíveis de cloroquina em desenvolvimento com resinas de troca iônica para o tratamento pediátrico da malária

Abreu, Breno Monteiro¹; Matos, Ana Paula dos Santos¹; Pietroluongo, Márcia¹; Kelly, Luiz Augusto Deodoro¹; Viçosa, Alessandra Lifstich¹; do Nascimento, Diogo Dibo²; da Fonseca, Laís Bastos³; de Sousa, Eduardo Gomes Rodrigues⁴; Guimarães, Thiago Frances¹

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental (LabFE), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro – RJ- Brasil

2) Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica (LDVA), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro – RJ- Brasil.

3) Serviço de Equivalência Farmacêutica e Farmacocinética (SEFAR), Vice-presidência de Produção e Inovação em Saúde (VPPIS), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro – RJ- Brasil.

4) Seção de Análise e Identificação de Compostos com Potencial Terapêutico, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro – RJ- Brasil.

E-mail: breno.abreu@fiocruz.br; eduardo.sousa@fiocruz.br; thiago.frances@fiocruz.br

Os comprimidos dispersíveis podem ser considerados o sistema de liberação de fármacos mais adequado para pacientes pediátricos, devido à sua capacidade de se desintegrar rapidamente em pequenos volumes de água e serem formulados com adjuvantes para mascaramento do sabor do medicamento [1]. A cloroquina (CLQ) apresenta um sabor amargo forte e uma técnica eficaz para contornar esse problema é a complexação com resinas de troca iônica (RTI) [2]. A complexação com RTI mascarou de forma eficaz o sabor amargo da CLQ, formando complexos estáveis e de liberação imediata [2]. O objetivo foi produzir comprimidos dispersíveis com a cloroquina resinato (CQR) e avaliar as formulações quanto a friabilidade, ao tempo de desintegração e ao perfil de dissolução. Foram estudadas 4 (quatro) formulações de comprimidos dispersíveis de CQR, produzidos por compressão direta. As formulações combinaram o tipo de diluente (manitol ou isomalte) com o tipo de desintegrante (hidroxipropilcelulose ou crospovidona). Os comprimidos foram avaliados quanto a friabilidade e tempo de desintegração em água 25 °C ± 1 °C [3]. O perfil de dissolução foi avaliado comparativamente ao comprimido do medicamento referência, utilizando diferentes valores de pH no meio de dissolução. As formulações dos comprimidos com isomalte apresentaram valores de friabilidade maiores (0,50% e 0,36%) do que aqueles com manitol (0,34% e 0,19%). Não foram observadas diferenças no tempo de desintegração, sendo de aproximadamente 60s. Os perfis de dissolução das formulações não diferenciaram entre si e se mostraram pH-dependente. Quanto mais ácido o meio de dissolução, maior o despreparo da CQR e conseqüentemente, a liberação de CLQ para o meio. Todas as formulações de comprimidos dispersíveis estudadas apresentaram friabilidade e tempo de desintegração dentro dos parâmetros farmacopeicos. O perfil de dissolução demonstrou que a CLQ é liberada em pH ácido, mas não em pH 6,8. Os comprimidos dispersíveis de CQR podem ser uma forma adequada, com eficiente mascaramento de sabor para uma administração exitosa em pacientes pediátricos de malária. Este trabalho contou com o apoio do Programa Inova Fiocruz/VPCCB e FAPERJ.

Palavras-chave: resinato de cloroquina; comprimidos dispersíveis; malária; perfil de dissolução.

Referências:

[1] Kean, E. A.; Adeleke, O. A. Orally disintegrating drug carriers for paediatric pharmacotherapy. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*. v. 182, n. 106377, 2023.

[2] Guimarães, T. F. et al. Investigation of chloroquine resinate feasibility and in vitro taste masking evaluation for pediatric formulations. *AAPS Pharm Sci Tech*. v. 23, n. 69, 2022.

[3] European Directorate for the Quality of Medicines, Council of Europe. General Monograph on Dosage Forms: Tablets: Orodispersible Tablets. *European Pharmacopoeia*, 6th ed. Strasbourg, France: European Directorate for the Quality of Medicines, Council of Europe, 2009.

Desenvolvimento de nano-poliplexos para transfecção gênica *in vitro* de linfócitos T para a expressão de receptores quiméricos de antígenos (CAR-T)

Tobler, Juliana Palermo^{1,2}; da Silva, Flavia Fernandes Ferreira²; da Silva, Talita Nascimento²; Aragão, Emmanuel Arthur Albuquerque³; Bonamino, Martin Hernan⁴; Rocha, Helvécio Vinicius Antunes^{1,2}.

1) Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos, Farmanguinhos - Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil. julianatobler@gmail.com.

2) Laboratório de Micro e Nanotecnologia, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

3) Instituto Nacional do Câncer – INCA, RJ, Brasil.

4) Vice-presidência de Pesquisa e Coleções Biológicas, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil.

A terapia CAR-T tem se demonstrado diferencial para os pacientes com tumores hematológicos. Entretanto, deve-se considerar o acesso ainda limitado a essa terapia, não só pelo seu alto custo, mas também pelas dificuldades logísticas para a modificação genética dessas células utilizando os vetores virais e laboratórios centrais certificados. Nano-poliplexos, materiais nanoestruturados à base de polímeros combinados com sistemas de modificação genética, têm obtido bons resultados em linhagens celulares e modelos animais em termos de eficiência de transfecção e segurança, sendo considerados estratégias promissoras para o desenvolvimento de novos vetores para a terapia gênica. O sistema *sleeping beauty* (SB) tem demonstrada eficiência para a alteração genética de diversas células primárias e linhagens celulares humanas e de camundongos. Esse projeto tem por objetivo realizar o desenvolvimento, a caracterização e a avaliação de nano-poliplexo para transfecção gênica *in vitro* de linfócitos T para a expressão de um CAR anti-CD19. [1, 2 e 3] Nessa primeira etapa do projeto, foram realizadas 6 sínteses de um polímero à base de poli(beta-amino éster), com e sem terminações de cadeia, em diferentes condições de síntese e, então, procedeu-se a extensiva caracterização físico-química. Todos os produtos sintetizados possuem aspecto compatível com a literatura em relação a sua coloração âmbar e sua viscosidade. Além disso, todos os polímeros, com exceção do produto da segunda reação, tiveram sua estrutura química confirmada por FTIR, RMN-¹H e RMN-¹³C. Além disso, todos os polímeros testados apresentaram capacidade tamponante na faixa de pH fisiológico. Todas as formulações demonstraram, preliminarmente, adequada retenção dos plasmídeos no nano-poliplexo gerado. Foram realizadas as primeiras transfecções que tiveram por objetivo a adaptação do processo para o uso de poliplexos e, com os resultados iniciais, ajustes já foram planejados, principalmente em relação ao meio de cultura utilizado e adaptação na etapa de lavagem das células após as 4 h de transfecção. Nessa primeira etapa do projeto, foi atingido o objetivo principal de identificar e sintetizar um polímero que possibilite a execução da segunda parte desse projeto, que terá como foco o desenvolvimento de uma formulação que apresente taxa de transfecção e viabilidade celular satisfatórias para terapia CAR-T.

Palavras-chave: poli(beta-amino éster); CAR-T; nano-poliplexo; *sleeping beauty*

Referências:

[1] IQBAL, S.; ZHAO, Z. Poly (β amino esters) copolymers: Novel potential vectors for delivery of genes and related therapeutics. *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 611, no. 121289, 2022.

[2] MUKALEL, A. J. *et al.* Nanoparticles for nucleic acid delivery: Applications in cancer immunotherapy. *Cancer Letters*, vol. 458, p. 102–112, 2019.

[3] CHICAYBAM, L. *et al.* Transposon-mediated generation of CAR-T cells shows efficient anti B-cell leukemia response after ex vivo expansion. *Gene Therapy*, vol. 27, no. 1–2, p. 85–95, 2020.

Estudos de formulações farmacêuticas com diferentes hidrocoloides para obtenção de pastilhas gomosas impressas em 3D.

Azevedo Neta, Lêda Maria Santana¹; Moreira, Amanda de Oliveira Esteves¹; Correia, Beatriz Borges¹; Abreu, Breno Monteiro¹; Kelly, Luiz Augusto Deodoro¹; Matos, Ana Paula dos Santos¹; Guimarães, Thiago Frances¹, Viçosa, Alessandra Lifstitch¹, Pietroluongo, Marcia¹

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental (LabFE), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro – RJ- Brasil. leda.neta@fiocruz.br e marcia.pietroluongo@fiocruz.br

A tecnologia de impressão 3D de medicamentos apresenta-se como uma opção inovadora capaz de atender algumas necessidades de saúde pública como a personalização de doses, diferentes formas de liberação dos fármacos e fabricação sob demanda [1]. Além disso, possui robustez para ser transportada até os locais de distribuição (point of care), condição que agrega agilidade ao atendimento em áreas remotas. A tecnologia consiste na formação camada por camada do objeto, a partir da modelagem computacional previa da estrutura tridimensional [2,3]. As impressoras 3D de medicamentos podem ser alimentadas com mistura de pós, semissólidos ou filamentos, ampliando a oferta de alternativas farmacêuticas [4,5]. O objetivo do trabalho foi realizar estudos de formulação para obtenção de protótipo placebo de pastilhas gomosas impressas em 3D, com características que viabilizem a futura incorporação de fármacos e produção de um produto farmacêutico. Foram produzidas seis formulações com diferentes combinações de hidrocolóides, adjuvantes farmacotécnicos e açúcar. O processo de fabricação foi a quente, com agitação mecânica e controle de temperatura. As formulações testadas foram: T1 (gelatina e açúcar); T2 (pectina, açúcar e baixo teor de sólidos); T3 (pectina, açúcar e alto teor de sólidos); T4 (gelatina e pectina); T5 (carragena entre 1,9% e 1% de concentração) e T6 (carragena e gelatina). Após a gelificação T1, T2 e T4 apresentaram características físico-mecânicas inadequada a impressão como alta viscosidade, além de grumos e aspecto pegajoso. T3 obteve características de textura mais adequadas devido ao aumento de teor de sólidos e menor atividade de água no meio, o que favoreceu a gelificação. Em T5 com concentrações de carragena maiores que 1%, observou-se a formação de grumos, o que não foi observado na formulação com 1% de carragena. A formulação T6 apresentou características adequadas para a impressão, como firmeza e ausência de grumos. Os resultados indicaram que características de fabricação dos hidrocoloides como temperatura e teor de sólidos são variáveis importantes no processo de obtenção de pastilhas gomosas. Dentre os hidrocoloides testados, a carragena apresentou resultados mais promissores. Agradecimento: à Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro – FAPERJ pelo apoio concedido na forma de Bolsa de Iniciação tecnológica.

Palavras-chave: impressão 3D de medicamentos; formas farmacêuticas personalizadas, gomas hidrofílicas.

Referências:

- [1] TRENFIELD, S. J. et al. Shaping the future: recent advances of 3 d printing in drug delivery and healthcare. *Expert Opinion on Drug Delivery*, v.16, n.10, p.1081-1094, 2019.
- [2] SEOANE-VIAÑO, I. et al. Translating 3D printed pharmaceuticals: from hype to real-world clinical applications. *Advanced Drug Delivery Reviews*, v. 174, p. 553-575, 2021.
- [3] WU, W. et al. A programmed release multi-drug implant fabricated by three-dimensional printing technology for bone tuberculosis therapy. *Biomedical Materials*, v. 4, n. 6, p. 65, 9 nov. 2009.

Estudo de compatibilidade entre dissulfiram, benznidazol e excipientes para o tratamento da doença de chagas

Santolia de Oliveira, Luiz Felipe¹; Dos Santos Matos, Ana Paula¹; Vannier, Marcos André²; Viçosa, Alessandra Lifschit¹

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental (LabFE) - Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil. luizsantolia@aluno.fiocruz.br; alessandra.vicosa@fiocruz.br; paula.matos@fiocruz.br.

2) Laboratório de Inovações, Terapias, Ensino e Bioprodutos (LITEB) – Instituto Oswaldo Cruz, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil

A doença de Chagas é uma doença crônica negligenciada que possui tratamentos atuais pouco efetivos com muitos efeitos colaterais [1]. Estudos pré-clínicos demonstraram efeito sinérgico positivo entre a associação de Dissulfiram (Ds) e Benznidazol (Bz) contra cepas do parasito. Com isso, o objetivo deste trabalho foi investigar a interação fármaco-excipiente para futuro desenvolvimento de medicamento, visto o sucesso descrito na literatura do uso de doses fixas combinadas [2]. Este estudo foi desenhado com misturas binárias (1:1) e ternárias (1:1:1) de Bz, Ds, amido de milho, celulose microcristalina, amidoglicolato de sódio (Ag), estearato de magnésio, polivinilpirrolidona (PVP), carbonato de cálcio e talco. Essas misturas foram analisadas por espectroscopia no infravermelho (IR) e análises térmicas, sendo elas: calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria (TG). Análises complementares de *hot stage microscopy* (HSM) e difração de raios X de pó (DRXP) foram realizadas para misturas com possíveis interações. As amostras foram armazenadas em frascos de vidro âmbar cobertas com papel permeável em câmara climática a $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}/75\% \pm 5\%$ UR durante 1 mês. Os resultados mostraram que dos sete excipientes analisados, cinco não tiveram interação física. Dois excipientes (Ag e PVP) apresentaram alguma possível interação com Bz de acordo com a análise realizada pelo DSC e apenas o PVP apresentou interação com Ds de acordo com o perfil obtido na TG. Além disso, Bz e Ds apresentaram alguma interação entre eles que já foram descritas pelo grupo de pesquisa [3]. De acordo com a HSM, as interações visualizadas no DSC podem estar relacionadas à solubilização do Bz durante o aquecimento das misturas. Com o resultado apresentado, mais estudos devem ser empregados para se investigar melhor essas possíveis interações. Porém, a presente pesquisa permitiu uma análise inicial dos possíveis excipientes candidatos à participação na formulação sólida oral da combinação destes dois fármacos. Agradecimentos: Inova Fiocruz e Capes.

Palavras-chave: Doença de Chagas; Estudo de Compatibilidade; Benznidazol; Dissulfiram.

Referências:

[1] Pérez-Molina, J.Á.; Molina, I. Chagas Disease. *Lancet*. 2018. v.391, p.82-94.

[2] Almeida-Silva, J.; Menezes, D.S.; Fernandes, J.M.P.; Almeida, M.C.; Vasco-dos-Santos, D.R.; Saraiva, R.M.; Vannier-Santos, M.A. The repositioned drugs disulfiram/diethyldithiocarbamate combined to benznidazole: Searching for Chagas disease selective therapy, preventing toxicity and drug resistance. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2022. v.12, p. 926699.

[3] Vinagre, N.F. Estudo de compatibilidade fármaco-fármaco e fármaco-excipientes de associação em dose fixa para o tratamento da doença de chagas. Trabalho de conclusão de curso (Especialização em Tecnologias Industriais farmacêuticas), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Rio de Janeiro, 2020.

Identificação e qualificação de impurezas *in silico* em comprimidos de Primaquina

Mendes, Tamara de Carvalho¹; Furtado, Maria Eduarda Correia¹; Medeiros, Juliana Johansson Soares²; do Nascimento, Diogo Dibo¹; Prado, Livia Deris¹; de Oliveira, Camila Areias¹

1) Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. mcorreia@aluno.fiocruz.br; camila.areias@fiocruz.br

2) Coordenação de Desenvolvimento Tecnológico, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Os estudos de estabilidade e degradação forçada de medicamentos garantem a eficácia e segurança do produto ao longo de sua validade, assegurando a qualidade dos tratamentos [1]. Durante o estudo de estabilidade de longa duração do produto Primaquina (PMQ) comprimidos de 5 mg embalados em blísteres brancos opacos Aclar 200®, realizado conforme preconiza a RDC 318/2019 (30 °C / 75% UR, 24 meses), foram observados dois produtos de degradação (PD), que necessitavam ser identificados, uma vez que atingiram seu limite de identificação [2,3]. O objetivo do trabalho foi a identificação estrutural e qualificação *in silico* para a avaliação da mutagenicidade dos PDs encontrados no estudo de estabilidade. Sugere-se que os PDs sejam oriundos da interação da PMQ com impurezas do excipiente Crospovidona XL. Assim, uma mistura de PMQ e crospovidona XL foi aquecida sob refluxo em água a 80 °C por 48 h, para avaliar o perfil de degradação e comparar com o encontrado na estabilidade. As amostras foram preparadas utilizando comprimidos contendo PMQ triturados, solubilizados, filtrados e analisados por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE) e cromatografia líquida acoplada a espectômetro de massas de alta resolução (LC-HRMS – *High Resolution Mass Spectrometry*). O método cromatográfico consistiu em um gradiente binário de fase móvel contendo TFA 0,05% e ACN e fase estacionária C18. As mesmas condições foram utilizadas no método de LC-HRMS, que se mostrou eficiente na separação das impurezas encontradas. As amostras foram analisadas utilizando o analisador de massas orbitrap com ionização por eletrospray (ESI-orbitrap-MS). Adicionalmente, uma das impurezas elucidadas foi submetida a qualificação *in silico* através de predição por teste de Ames [4] por comparação com moléculas análogas encontradas no banco de dados do software QSAR Toolbox. Os resultados confirmaram que os PDs eram oriundos da oxidação da PMQ ao interagir com o excipiente crospovidona XL [5]. A análise feita por ESI-orbitrap-MS mostrou sinais iônicos em m/z 517.3259 e m/z 461.21567, para os principais PDs encontrados e a fragmentação MS/MS, auxiliou na etapa de elucidação estrutural. A predição *in silico* para o teste de Ames gerou um resultado negativo para a mutagenicidade do PD testado, indo de acordo com as recomendações internacionais de limites de especificação e quantificação. O estudo destaca a importância do desenvolvimento analítico na avaliação da qualidade e segurança do produto farmacêutico.

Palavras-chave: primaquina; estabilidade; degradação forçada; cromatografia líquida; espectrometria de massas

Referências:

[1] ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Guia nº 28, de 08 de novembro de 2019. Disponível em: < www.anvisa.gov.br/legislacao>. Acessado em: 17 set. 2023.

[2] ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 318, de 06 de novembro de 2019. Disponível em: < www.anvisa.gov.br/legislacao> Acesso em: 17 set. 2023.

[3] ANVISA. AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. Resolução da diretoria colegiada - RDC nº 53, de 04 de dezembro de 2015. Disponível em: < www.anvisa.gov.br/legislacao> Acesso em: 17 set. 2023.

[4] OECD. ORGANISATION FOR ECONOMIC CO-OPERATION AND DEVELOPMENT. Environment Health and Safety Publications Series on Testing and Assessment N° 31. Detailed Review Paper on Non-Genotoxic Carcinogens Detection: The Performance of In-Vitro Cell Transformation Assays. Environment Directorate. Paris, 2001.

[5] HARTAUER, K J. et al. Influence of Peroxide Impurities in Povidone and Crospovidone on the Stability of Raloxifene Hydrochloride in Tablets: identification and control of an oxidative degradation product. *Pharmaceutical Development and Technology*, [S.L.], v. 5, n. 3, p. 303-310, jan. 2000.

Encapsulação simultânea de nanopartículas magnetopoliméricas para terapia fotodinâmica do câncer

Schuenck-Rodrigues, Raphaela Aparecida ¹; Ricci-Júnior, Eduardo ¹

1) Laboratório de Desenvolvimento Galênico – LADEG Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ. E-mail: raphapharma@gmail.com

O câncer é um problema de saúde pública mundial; no Brasil, estima-se 704 mil novos casos no triênio 2023-2025. A terapia fotodinâmica (TFD) é um tratamento o qual as células tumorais são destruídas por exposição de luz [1]. As nanopartículas magnéticas direcionadas para o tumor através de campo magnético, promovem calor, destruindo seletivamente o tumor. Objetivou-se realizar encapsulação simultânea de nanopartículas magnetopoliméricas contendo fotossensibilizante (FS) para terapia fotodinâmica do câncer. As nanopartículas (NP) foram preparadas através do método de emulsão e evaporação do solvente [2,3]. Os tamanhos das NP e índice de polidispersividade apresentaram respectivamente valores de 33,6 nm e 0,11 NP magnética (NanoMag); 186,4 nm e 0,064 NP Vazia; 186 nm e 0,05 NP (ftalocianina cloro alumínio) FtCl-Al; 333,56 nm e 2,14 NP NanoMag FtCl-Al. Um ímã foi utilizado para avaliar a capacidade de magnetização das NP. As NP contendo no seu interior as NP NanoMag foram atraídas pelo ímã. O processo de encapsulação simultânea das NP NanoMag e NP FtCl-Al interferiu no tamanho do sistema aumentando o tamanho dessas NP híbridas. As NP NanoMag FtCl-Al apresentaram tamanhos maiores do que as outras amostras, entretanto, apesar da distribuição monomodal os valores de índice de polidispersão foram mais elevados. A avaliação da citotoxicidade das NP na ausência de luz, reduziu cerca de 75% a viabilidade em linhagem celular A549 de adenocarcinoma pulmonar humano. No ensaio de fototoxicidade, as células foram submetidas à irradiação com luz vermelha ($\lambda = 660$ nm), dose de 30 J/cm² e mantidas em estufa a 37°C por 24 horas. Após incubação, foi mensurada a viabilidade celular pelo teste do MTT. As NP contendo FS induziu efeito tóxico na cultura de células reduzindo a viabilidade celular cerca de 40%. As NP NanoMag FtCl-Al foram produzidas com bom rendimento de processo, excelente eficiência de encapsulação, tamanho nanométrico, forma esférica e regular, liberação prolongada do fotossensibilizante e pronunciada atividade fotobiológica antitumoral [2,4]. Os nanossistemas desenvolvidos são promissores nanocarreadores para fotossensibilizantes e partículas magnéticas. Novos estudos com campos eletromagnéticos podem elucidar o uso de NP magnetopoliméricas contendo FS para tratamento do câncer pela associação da Hipertermia e TFD; entretanto as pesquisas neste campo estão evoluindo e novas descobertas podem levar a avanços significativos no tratamento do câncer no futuro.

Palavras-chave: nanopartícula, nanopartícula magnética, fotossensibilizante, terapia fotodinâmica, câncer.

Referências:

- [1] CHATTERJEE, D.K.; FONG L.S.; ZHANG Y. Nanoparticles in photodynamic therapy: An emerging paradigm. *Advanced Drug Delivery Reviews* 60, 1627–1637, 2008.
- [2] DA VOLTA SOARES, M. et al. Nanostructured delivery system for zinc phthalocyanine: preparation, characterization, and phototoxicity study against human lung adenocarcinoma A549 cells. *International Journal Nanomedicine*. 6: 227-38. 2011.
- [3] NÚÑEZ, S. C., RIBEIRO, M. S., GARCEZ, A. S. *Terapia Fotodinâmica Antimicrobiana na Odontologia*. Rio de Janeiro, Elsevier, 2013.
- [4] SCHUENCK-RODRIGUES, R A; et al. *Journal of Photochemistry and Photobiology B- Biology*, v. 211, p. 112010; 2020.

Cenário regulatório da impressão 3D de medicamentos no Brasil: como superar lacunas sem prejudicar o desenvolvimento da tecnologia?

Ramos, Rodrigo¹; Moreira, Amanda¹; Viçosa, Alessandra¹; Costa, Jorge².

1) Laboratório de Farmacotécnica Experimental, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. rodrigo.silva@fiocruz.br e alessandra.vicosa@fiocruz.br

2) Vice-Presidência de Produção e Inovação em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. jorge.costa@fiocruz.br

O desenvolvimento de medicamentos por impressão 3D, está sendo aplicado como uma potencial solução para resolver muitos problemas encontrados com os medicamentos convencionais, com a possibilidade de se obter impressos personalizados de acordo a necessidade do paciente e fabricado no ponto de uso [1]. Nesse sentido se faz necessário avaliar os requisitos regulatórios existentes de forma a identificar lacunas e a proposição de ações para viabilizar que essa nova tecnologia esteja disponível para uso e gerando medicamentos com qualidade, segurança e eficácia para a sociedade. O presente trabalho consistiu na revisão das bases de dados das principais agências regulatórias mundiais (*European Medicines Agency - EMA, Food and Drug Administration - FDA e Medicines and Healthcare Products Regulatory Agency - MHRA*) e das bases de dados científicas dos últimos 5 anos. Com destaque e em ordem cronológica podemos citar: 1) documento sobre a estratégia da rede de agências europeias de medicamentos até 2025 da EMA com o propósito de estabelecer iniciativas para viabilizar a introdução de novas tecnologias, incluindo impressão 3D e ações voltadas para a aplicação dessas tecnologias nos pontos de uso [2]; 2) publicação do FDA do documento de discussão sobre impressão 3D de dispositivos médicos no ponto de uso [3]; 3) consulta pública do MHRA, com propostas para apoiar a regulamentação de medicamentos fabricados nos pontos de uso [4] e 4) relatório de reunião do grupo de inovação de qualidade do EMA que aborda as iniciativas e estratégias voltadas para a produção descentralizada de medicamentos personalizados [5]. Foi possível observar que as principais agências internacionais vêm debatendo o tema de impressão 3D de medicamentos com a sociedade com o objetivo de se estabelecer caminhos regulatórios a serem empregados para possibilitar a incorporação dessa tecnologia como uma nova opção de fabricação de medicamentos, diferente do que ocorre no Brasil, onde a Anvisa ainda não iniciou nenhum debate. Este cenário é reflexo do baixo número de pesquisas ainda realizadas no país sobre o tema e principalmente sem uma imediata aplicação industrial. Com relação as bases de dados científicos, pode-se observar que a implementação desta tecnologia já está ocorrendo internacionalmente em ambientes hospitalares de arcabouço regulatório menos exigente [6], já que as preparações usadas são em sua maioria extemporâneas, mas igualmente inexistente no Brasil.

Palavras chaves: impressão 3D, medicamentos personalizados, aspectos regulatórios.

Referências:

- [1] Krueger et al. 3D printing: potential clinical applications for personalised solid dose medications. *The Medical Journal of Australia*, volume 216, 2022.
- [2] EMA – EUROPEAN MEDICINES AGENCY. European medicines agencies network strategy to 2025. 2020.
- [3] FDA - U.S. FOOD & DRUG ADMINISTRATION. 3D Printing Medical Devices at the Point of Care: Discussion Paper. 10/12/2021.
- [4] MHRA - MEDICINES & HEALTHCARE PRODUCTS REGULATORY AGENCY. Government response to consultation on proposals to support the regulation of medicines manufactured at the Point of Care. 2023.
- [5] EMA – EUROPEAN MEDICINES AGENCY. Quality Innovation Group (QIG) – Listen and learn focus group (LLFG) meeting report. 2023.
- [6] Huanbutta, K. et al. Practical Application of 3D Printing for Pharmaceuticals in Hospitals and Pharmacies. *Pharmaceutics* volume 15, 2023.

A importância da atualização da RDC que dispõe sobre as Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos

Covas, Ana Carolina^{1,2}; Monteiro, Caroline^{1,2}; Dias, Bruno¹; Vidal, Camila¹; Martins, Janaína¹; dos Santos, Valquíria¹; Marchetti, Raquel¹; Graeff, Alexandre¹; Paiva, Marcela¹; Palácio, Sarah¹; Penello, Simone¹; Sipriano, Natalia¹.

1) Laboratório Químico-Farmacêutico da Aeronáutica – Estrada do Galeão, 4001, Ilha do Governador, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

2) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia – Av. Carlos Chagas Filho, 373, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. [carolcovas@gmail.com, natalia.sipriano@gmail.com]

As Boas Práticas de Fabricação (BPF) surgiram como uma forma de a Organização Mundial da Saúde (OMS) garantir a qualidade dos medicamentos comercializados em nível internacional [1]. Assim, devido às constantes mudanças regulatórias buscando o alinhamento da regulamentação de BPF de medicamentos no Brasil com os guias internacionais, somado à necessidade de melhoria na qualidade dos medicamentos fabricados e de uma maior equivalência farmacêutica no cenário mundial, foi publicada pela Anvisa a RDC 301/2019 [1-4]. Tal norma foi um marco regulatório de BPF de medicamentos nacionais, sendo recentemente atualizada pela RDC 658/2022 [4]. O objetivo deste trabalho foi citar a atualização do marco regulatório de BPF de medicamentos, a RDC 658/2022. Fez-se uma pesquisa na plataforma Periódico CAPES de estudos científicos publicados entre 2019 e 2023, através da análise de conteúdo, e no site da Anvisa de legislações pertinentes. A RDC 658/2022 foi publicada logo após a Anvisa começar a fazer parte da Convenção Farmacêutica Internacional e Esquema de Cooperação em Inspeção Farmacêutica, o PIC/S (Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme). Tais fatos contribuíram para elevar a credibilidade dos medicamentos fabricados no Brasil, uma vez que um programa de inspeção farmacêutica direcionado ao mercado internacional possibilita um ambiente regulatório favorável ao desenvolvimento econômico e, com isso, o aumento na competitividade entre as empresas nacionais e internacionais [1,2]. A mencionada norma também reforça a relevância de um Sistema de Gerenciamento de Riscos bem implementado, tendo em vista que esse sistema norteia as auditorias realizadas nas indústrias farmacêuticas, com foco na melhoria contínua dos processos dentro de um Sistema de Gestão da Qualidade robusto [2,5]. Importante destacar que uma abordagem produtiva baseada no conhecimento dos riscos relacionados à fabricação de medicamentos, tem como propósito manter o trinômio segurança, eficácia e qualidade durante todo o ciclo de vida do produto [2,5]. Portanto, a RDC 658/2022, além de representar a atualização regulatória de BPF, somada à relevância de ter a Anvisa como membro do PIC/S, contribui positivamente para o mercado farmacêutico brasileiro com a melhoria contínua da qualidade dos produtos fabricados, além de proporcionar o acesso seguro a medicamentos, tanto no cenário nacional quanto internacional.

Palavras-chave: Anvisa; PIC/S; Boas Práticas de Fabricação; Medicamento

Referências:

[1] Sizukusa, Letícia Oyamada; Fontoura, Yuna; Krieger, Morgana G. Martins. Difusão de política na prática: o caso da regulação brasileira de medicamentos. *Revista de Administração Pública, Fundação Getúlio Vargas*, vol. 57, no. 3, 2023.

[2] Nascimento, Julisson Marques Roque do; Santos, Mirelle Rodrigues dos; Quintilio, Maria Salete Vaceli. O controle de qualidade nas indústrias farmacêuticas. *Revista JRG de Estudos Acadêmicos*, ano 5, vol. 5, n. 11, 2022.

[3] BRASIL. RDC N° 301, de 21 de agosto de 2019. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA.

[4] BRASIL. RDC N° 658, de 30 de março de 2022. Dispõe sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos. Ministério da Saúde - Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA.

[5] Vasconcelos, Daniela Moulin Maciel de; et. al. Panorama da produção local de medicamentos no Brasil: Desafios e Vulnerabilidades. Organização Pan-Americana da Saúde e Fundação Oswaldo Cruz, Brasília, D.F.; 2023.

Pirazinamida, um medicamento contemporâneo de primeira linha no tratamento da tuberculose.

Monteiro, Caroline^{1,2}; Covas, Ana Carolina^{1,2}; Marchetti, Raquel¹; Graeff, Alexandre¹; Paiva, Marcela¹; Palácio, Sarah¹; Vidal, Camila¹; Martins, Janaína¹; dos Santos, Valquíria¹; Dias, Bruno¹; Sipriano, Natalia¹; Penello, Simone¹

1) Laboratório Químico-Farmacêutico da Aeronáutica – Estrada do Galeão 4001, Ilha do Governador, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. [caroline.tavares28@gmail.com, penellosop@fab.mil.br]

2) Universidade Federal do Rio de Janeiro, Faculdade de Farmácia – Av. Carlos Chagas Filho 373, Ilha do Fundão, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

A tuberculose (TB) é considerada a segunda doença infecciosa mais mortal, seguida somente da COVID-19^[3]. O regime de tratamento tradicional com duração de 6 meses gera dificuldade de adesão pelos pacientes. Assim, o campo da pesquisa objetivou encurtar a terapia mantendo ou aumentando a eficácia. Recentemente, a Organização Mundial da Saúde aderiu a um tratamento de 4 meses: 8 semanas de pirazinamida (PZA), isoniazida, rifapentina e moxifloxacina e 9 semanas de isoniazida, rifapentina e moxifloxacina [4]. Com objetivo de revisar o uso da PZA nos regimes de tratamento da TB e examinar suas características farmacológicas e aspectos regulatórios de bioisenção, legislações atualizadas e estudos científicos publicados entre 1969 e 2023 foram avaliados. A PZA é um medicamento antituberculose de primeira linha que deve ser usado no início do esquema de tratamento por sua ação esterilizante que diminui drasticamente a população bacteriana [3]. Entra no bacilo *M. tuberculosis* por difusão passiva, é convertida enzimaticamente em ácido pirazinóico (APO) e excretada por uma bomba de efluxo fraca [3,5]. O APO protonado (HAPO) fica acumulado dentro da célula do bacilo. A alta acidificação do citoplasma, combinada à baixa eficiência da bomba de efluxo, leva ao acúmulo do HAPO, que promove a interrupção da energia e função da membrana do bacilo, gerando dano celular progressivo à micobactéria [5]. A RDC 749/2022, referente a substituição dos estudos de bioequivalência e biodisponibilidade *in vivo* por *in vitro*, permite bioisentar fármacos de classe I ou III, com base no Sistema de Classificação Biofarmacêutica (SCB), que classifica os fármacos de I a IV, com base em sua solubilidade e permeabilidade através de membranas biológicas [1,2]. A bioisenção é abordada objetivando acelerar o processo de petição de registro ou pós-registro de medicamentos destinados aos programas assistenciais do Ministério da Saúde [1,2]. Devido à atividade esterilizante única da PZA entre todos os medicamentos para o tratamento da TB, seu uso permanece indispensável, descrito em protocolos clínicos globais [4]. É de suma importância sua produção pelos laboratórios farmacêuticos oficiais, possibilitando o acesso da população ao tratamento. Com base na legislação atual e literatura científica, conclui-se que a PZA é um fármaco apto a bioisenção baseada no SCB por ser categorizado na classe III, cujas características físico-químicas implicam na sua alta solubilidade aquosa e baixa permeabilidade intestinal.

Palavras-chave: pirazinamida; tratamento da tuberculose; bioisenção.

Referências:

- [1] Becker, C. *et al.* Biowaiver Monographs for Immediate Release Solid Oral Dosage Forms: Pyrazinamide. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 97, no. 9, p. 3903-3916, 2008.
- [2] Brasil. Resolução da Diretoria Colegiada da Agência Nacional de Vigilância Sanitária - RDC/ANVISA nº 749, de 5 de setembro de 2022. Ministério da Saúde, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), 2022.
- [3] Chen, R. H. *et al.* Is there a need to optimize pyrazinamide doses in patients with tuberculosis? A systematic review. *International Journal of Antimicrobial Agents* 62, 106914, 2023.
- [4] OMS. Organização Mundial da Saúde. WHO Consolidated Guidelines on Tuberculosis. Module 4: treatment - drug-susceptible tuberculosis treatment. Geneva: World Health Organization, 2022.
- [5] Zhang, Y. *et al.* Mechanisms of Pyrazinamide Action and Resistance. *Microbiology Spectrum*, 2(4): MGM2-0023, 2014.

Impacto da Aplicação Retrospectiva do *Analytical Quality By Design* na Melhoria de um Método Analítico Estabelecido

Sousa, Flavia Furtado de Mendonça¹; Almeida, Daniel Valtão Lopes²; Nascimento, Diogo Dibo¹; Prado, Livia Deris¹

1) Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica – Instituto de tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil;

2) Laboratório de Controle da Qualidade – Instituto de tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. flavia.sousa@fiocruz.br; livia.prado@fiocruz.br

O ciclo de vida de um procedimento analítico é uma abordagem estruturada que engloba desde o seu desenvolvimento até a sua aplicação, otimização e eventual descontinuação. Este processo, muitas vezes alinhado à metodologia *Analytical Quality By Design* (AQbD), busca não apenas cumprir requisitos regulatórios, mas também assegurar a robustez e a confiabilidade dos dados analíticos ao longo do tempo. Este trabalho teve como objetivo, realizar intervenções corretivas em um método indicativo de estabilidade para associação de isoniazida + rifampicina para resolver um desafio de coeluição entre picos, aplicando princípios do AQbD. Já na fase três do ciclo de vida do método foi realizada uma investigação utilizando as técnicas de diagrama de Ishikawa e *brainstorming* para identificar os parâmetros analíticos que influenciam o desempenho cromatográfico [2]. Um delineamento experimental Placket-Burman foi então implementado para avaliar os efeitos principais das seguintes variáveis na resolução do par crítico: vazão, taxa de gradiente, concentração dos sais e percentual de acetonitrila e etanol das fases móveis, além da temperatura da coluna e pH do tampão [3]. Dos oito fatores avaliados, apenas o pH da fase móvel revelou uma influência estatisticamente significativa, a um nível de confiança 95%, na resolução entre o pico da rifampicina e uma das impurezas reportáveis. Foi proposta uma condição ótima de trabalho, utilizando o menor pH avaliado na robustez (pH 6,6), para otimizar a separação cromatográfica e resolver a coeluição sem afetar a validação do método. A resolução encontrada nessa condição foi de 3,3. Este estudo demonstra que a aplicação retrospectiva de princípios do AQbD pode corrigir eficazmente falhas em métodos analíticos já validados e rotineiramente utilizados para controle de qualidade. Essa abordagem permite evitar alterações pós-registro, ao aplicar experimentação multivariada mantendo os fatores dentro do domínio experimental da robustez. Assim, o AQbD demonstra sua eficácia na gestão do ciclo de vida dos métodos analíticos. Agradecimentos à Farmanguinhos, aos Laboratórios de Desenvolvimento e Validação Analítica, e ao Laboratório de Controle de Qualidade, pela colaboração e oportunidade de realizar este projeto em suas instalações.

Palavras-chave: AQbD; ciclo de vida analítico; delineamento experimental.

Referências:

[1] USP. United States Pharmacopeia. General Chapter <1220> The Analytical Procedure Lifecycle.

[2] MOREIRA, S.; LOURENÇO, F. R. Development and optimization of a stability-indicating chromatographic method for verapamil hydrochloride and its impurities in tablets using an analytical quality by design (AQbD) approach. *Microchemical Journal*, v. 154, n. November 2019, p. 104610, 2020.

[3] RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. Planejamento de Experimentos e Otimização de Processos. 2a. ed. Campinas: [2009].

Desenvolvimento de método de dissolução para ritonavir extrusado a partir de modelagem *in silico* e ensaios *in vitro*

Madeira, Gisele Pereira¹; Nascimento, Diogo Dibo¹; Rocha, Helvécio Vinícius Antunes¹; Prado, Livia Deris¹

1) Laboratório de desenvolvimento e validação analítica, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. gisele.madeira@fiocruz.br /Gisele Pereira Madeira; diogo.nascimento@fiocruz.br; helvecio.rocha@fiocruz.br; livia.prado@fiocruz.br

O ritonavir é um fármaco de baixa solubilidade usado no tratamento do HIV. O desenvolvimento de um método de dissolução adequado é essencial para avaliar seu desempenho. O uso de simulações *in silico* pode substituir testes experimentais, reduzindo tempo e recursos. Este estudo realizou comparações entre os perfis de dissolução *in vitro* e *in silico* de formulações extrusadas de ritoanvir que envolvem aquecimento e adição de excipientes, com o objetivo de melhorar a dissolução do fármaco [1]. O levantamento de métodos de dissolução para comprimidos de ritonavir extrusado foi por meio de pesquisa documental em Farmanguinhos e revisão das farmacopeias. Ensaio preliminares de perfil de dissolução foram conduzidos utilizando métodos internos de Farmanguinhos, USP e Farmacopeia Internacional. Com base destes resultados, o método de dissolução da farmacopeia internacional foi selecionado e ajustes no método foram realizados para otimização. Ensaio da solubilidade do extrusado foram realizados. As simulações *in silico* foram realizadas no *software* DDDplus. Foram realizadas simulações dos perfis de dissolução com base nos dados de solubilidade experimental, da literatura [2], e do *software* ADMET Predictor. Houve uma boa correlação dos dados simulados com os experimentais e da literatura [2]. O método da farmacopeia internacional foi considerado adequado, discriminativo e de fácil aplicação com ajustes realizados para sua otimização. A robustez do método foi avaliada por meio de um planejamento experimental (DoE) com um delineamento fatorial fracionado 2⁻⁴ com o programa Protimiza para avaliar os efeitos principais de pH, volume do meio, degaseificação e amostragem com 95% de confiança. Os testes de solubilidade mostraram que o ritonavir é mais solúvel em pH 1,2. Esses dados foram usados em simulações de dissolução, que concordaram com os resultados experimentais. O DoE foi aplicado com quatro fatores, mas nenhum deles afetou significativamente a dissolução, demonstrando a robustez do método escolhido. Este projeto evidenciou a utilidade das ferramentas computacionais *in silico* [3] para prever os perfis de dissolução de comprimidos de ritonavir, possibilitando um desenvolvimento analítico mais ágil e econômico. O método de dissolução da Farmacopeia Internacional demonstrou ser altamente relevante. Além disso, o DoE confirmou a robustez do método.

Palavras-chave: Desenvolvimento analítico. Método de dissolução. Modelagem *in silico*.

Referências:

- [1] ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Medicamentos – Guia nº 14, versão 1, de 08 de fevereiro de 2018. Guia de dissolução aplicável a medicamentos genéricos, novos e similares. Brasília, Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2018
- [2] NJOKU, J. O.; SILVA, A. D.; MUKHERJEE, D.; WEBSTER, G. K; LÖBENBERG, R. In silico tools at early stage of pharmaceutical development: data needs and software capabilities. AAPS PharmSciTech, v. 20, p.1-10, 2019.
- [3] SIMULATIONS PLUS. DDDPlus User Manual. 2016

Plano de ação para aprimoramento de resultados de dissolução em um laboratório de desenvolvimento analítico

de Oliveira, Maria Luiza Raimundo Azevedo¹; Diogo Dibo¹; Prado, Livia Deris¹.

1) Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica, Instituto de Tecnologia em Fármacos Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Email: maluazevedo22@gmail.com

O método de dissolução é uma ferramenta analítica essencial para a indústria farmacêutica, pois a partir dele torna-se possível identificar alterações lote a lote e mudanças durante o estudo de estabilidade [1,2]. A determinação do perfil de dissolução permite uma avaliação mais completa da liberação do insumo farmacêutico ativo (IFA). Assim, o perfil de dissolução é muito usado para suportar o desenvolvimento farmacotécnico, na escolha da melhor formulação e nos estudos de perfil comparativo com o medicamento de referência, no caso de desenvolvimento de medicamentos genéricos [3,4,5]. O Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica (LDVA) é responsável pelos ensaios de dissolução no desenvolvimento farmacêutico de Farmanguinhos e, cada vez mais, torna-se importante o fornecimento de resultados fidedignos, de acordo com as orientações regulatórias e científicas atuais. Este projeto teve como objetivo propor um plano de ação para a melhoria dos resultados do teste de dissolução, possibilitando a sua aplicação ao longo do ciclo de vida de medicamentos. A partir do levantamento de problemas relacionados à dissolução, de reuniões de tempestade de ideias e construção de diagrama de Ishikawa, foram mapeadas possíveis causas para que então, um plano de ação fosse proposto com a ferramenta 5W2H. Este trabalho teve como finalidade auxiliar os colaboradores do LDVA no desenvolvimento de método de dissolução discriminativo baseado em causas e problemas recorrentes, sendo possível estabelecer diretrizes importantes para o desenvolvimento de método adequado. Os problemas foram a alta variabilidade nos resultados e a reprovação no estudo de bioequivalência após aprovação no perfil comparativo. Ambos apresentaram causas possíveis relacionadas ao método analítico, como a dissolução fora da condição *sink* e o método não discriminativo. As causas relacionadas a alta variabilidade nos resultados foram dissolução fora da condição *sink* e desempenho inadequado dos equipamentos de quantificação, já as causas relacionadas com a aprovação no perfil comparativo foi o método não discriminativo e métodos não biorrelevantes. Além disso, foi possível propor ações de melhorias, como a elaboração de procedimentos para determinação da solubilidade e a avaliação do desempenho dos equipamentos de quantificação. O trabalho forneceu perspectivas de melhoria no que se refere a análise de dissolução no LDVA. Por fim, foram planejadas etapas com foco em projetos futuros.

Palavras-chave: método de dissolução, matriz 5W2H, plano de ação.

Referências:

- [1] ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Ministério da Saúde. Guia de dissolução aplicável a medicamentos genéricos, novos e similares, v. 2, 2021.
- [2] ANUMOLU, P. D. et al. Development and validation of discriminating and biorelevant dissolution test for lornoxicam tablets. Indian journal of pharmaceutical sciences, v. 77, n. 3, p. 312, 2015.
- [3] MCALLISTER, Mark et al. Developing Clinically Relevant Dissolution Specifications for Oral Drug Products—Industrial and Regulatory Perspectives. Pharmaceutics. 2020
- [4] RIVELLI, Graziella Gomes et al. Level A in vitro-in vivo correlation: application to establish a dissolution test for artemether and lumefantrine tablets. Journal of pharmaceutical and biomedical analysis, v. 155, p. 262-269, 2018.
- [5] SHOHIN, I. E. et al. A brief review of the FDA dissolution methods database. Dissolut. Technol, v. 23, p. 6-10, 2016

Estabelecimento de *Analytical Target Profile* para método de dissolução de comprimidos orodispersíveis Isoniazida com Rifampicina

Santos, Monique Silva¹; Oliveira, Camila Areias¹; Nascimento, Diogo Dibo¹; Prado, Livia Deris¹

1) Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítico, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. monique.santos@fiocruz.br, camila.areias@fiocruz.br; diogo.nascimento@fiocruz.br; livia.prado@fiocruz.br

O ensaio de dissolução é importante para avaliar formulações de medicamentos, para garantir a qualidade do produto lote a lote, é crucial desenvolver um método com poder discriminativo entre lotes. A abordagem *Analytical Quality by Design* (AQbD) estabelece metas de qualidade, usando ferramentas, como o *Analytical Target Profile* (ATP), define características de desempenho (CD) desejadas e justifica a conformidade com normas e especificações. Na literatura científica, poucos trabalhos utilizam a abordagem AQbD para o desenvolvimento de métodos de dissolução e nenhum trabalho demonstrou o ATP a partir de CD do método e da quantificação da dissolução.[1,2] O objetivo do estudo é estabelecer o ATP, determinando-se as CDs relevantes tomando como modelo o método de dissolução para comprimidos orodispersíveis de isoniazida 50 mg com rifampicina 75 mg. Foram estabelecidos as CDs dos parâmetros de desempenho do método, descritos no guia ICH Q2(R2) para o método de dissolução (MD) e quantificação (MQ) do percentual dissolvido dos IFAs. As CDs foram definidas, com alvo e justificativa.[3] Como resultado, para a seletividade do MD deve possuir poder discriminativo, para assegurar a qualidade do medicamento. Para o MQ, nenhuma interferência relevante de excipiente e meio de dissolução deve ser observada, assegurando que o IFA seja identificado e quantificado. Para a precisão, o MD deve apresentar o desvio padrão relativo (DPR) 10% entre as cubas no tempo de coleta inferior a 85% dissolvido e não ultrapassar 5% nos tempos de coleta, para garantir pouca variabilidade na avaliação da dissolução dos comprimidos. A precisão e exatidão do MQ, pode ser avaliada a partir da incerteza padrão combinada para atender a qualidade de medição. Para garantir a robustez do MD, deve apresentar ausência de impacto dos parâmetros do método, como meio de dissolução, volume, velocidade de rotação no percentual dissolvido ou deve-se estabelecer estratégia de controle (EC). Para o MQ também deve-se observar ausência de impacto ou estabelecimento de EC, a partir da avaliação de pequenas variações no MQ para cada IFA. A faixa do MQ deve ser Q-45% até 130% do conteúdo declarado, para demonstrar que o procedimento analítico fornece resultados com exatidão, precisão e especificidade aceitáveis. [3,4] Desta forma, este trabalho contribui para a melhoria da qualidade ao longo do ciclo de vida do medicamento, a partir do desempenho esperado, uma vez que não existe ATP completo disponível na literatura.

Palavras-chaves: AQbD, ATP, dissolução, validação

Referências:

- [1] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Guia de Dissolução Aplicável a Medicamentos Genéricos, Novos e Similares, nº 14/2018 – versão 2, 2021
- [2] Jayagopal, B; Shivashankar, M. Analytical Quality by Design – A Legitimate Paradigm for Pharmaceutical Analytical Method Development and Validation. Mechanics, Materials Science & Engineering Journal, Magnolithe, 2017
- [3] ICH Harmonised Tripartite Guideline. ICH Q2(R2): Validation of Analytical Procedures, 2022.
- [4] USP-NF1220. Analytical procedure life cycle. 2023

Desenvolvimento de método de dissolução para comprimidos de nevirapina: uso do planejamento experimental na avaliação da robustez e determinação da especificação.

de Almeida, Rayza Adrielle Dias¹; de Oliveira, Maria Luiza Raimundo Azevedo¹; Lopes, Ivone de Jesus do Nascimento¹; do Nascimento, Diogo Dibo¹; de Oliveira, Camila Areias¹; Prado, Livia Deris¹

1) Laboratório de Desenvolvimento e Validação Analítica, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. rayza.almeida@fiocruz.br, livia.prado@fiocruz.br

A nevirapina é um antirretroviral inibidor não-nucleosídeo da transcriptase reversa. Comprimidos contendo 200 mg deste insumo farmacêutico ativo (IFA) são usados no controle da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana-1 [1]. A dissolução é um atributo crítico de qualidade que mostra o desempenho *in vitro* do medicamento, o que reflete no efeito terapêutico [2]. Farmanguinhos possui registro do produto referência no país e, devido a substituição do fabricante do IFA, precisou-se comprovar a adequação do método de dissolução farmacopeico atualmente utilizado para a nova formulação [3]. Assim, este trabalho visou definir método de dissolução adequado ao produto segundo diretrizes de órgãos reguladores [2,4]. A adequação dos filtros polietileno de ultra alto peso molecular 35 μ m acoplado à cânula de amostragem e filtro de seringa de politetrafluoretileno 0,22 μ m foi investigada quanto a eficiência, adsorção e lixiviáveis. Avaliaram-se os perfis de dissolução de cinco formulações com diferenças deliberadas para comprovação do poder discriminativo. Usou-se o delineamento fatorial fracionado para avaliar a robustez durante o desenvolvimento, conforme recomendações internacionais, para justificar parâmetros do método de dissolução [5]. Nesse sentido, variaram-se pH, volume e degaseificação do meio e o tipo de amostragem. A seletividade e linearidade prévia do método de quantificação foram avaliadas. Os filtros mostraram-se adequados nos aspectos avaliados. Foi estabelecido um sistema de dupla filtração devido aos menores desvios padrão relativos observados entre réplicas de amostra. O método de dissolução foi capaz de discriminar o perfil de dissolução das diferentes formulações que apresentaram tipos de dissolução distintos. A ANOVA mostrou, ainda, diferenças estatísticas entre as curvas. No planejamento experimental, as variáveis pH de meio, degaseificação e tipo de coleta exerceram efeito estatisticamente significativo sobre o % dissolvido nos primeiros minutos de dissolução. Para eliminar tais influências, foram definidos os tempos de coleta de 10, 15, 30, 45 e 60 minutos para o uso em rotina. Ademais, o pH do meio teve efeito negativo sobre o % dissolvido em até 30 minutos e, considerando a robustez observada a partir de 45 minutos, alterou-se a especificação do método de dissolução para Q = 80% em 45 minutos. O método de quantificação mostrou-se adequado. Assim, comprovou-se a adequação do método de dissolução para avaliação da nova formulação do produto.

Palavras-chave: nevirapina, método de dissolução, planejamento experimental, especificação

Referências:

- [1] WANG, R. et al. Solubility determination and thermodynamic model analysis of nevirapine in different organic solvents from 278.15 K to 328.15 K. *Journal of Molecular Liquids*, v. 365, p. 120 - 173, 2022.
- [2] ANVISA. Agência Nacional de Vigilância Sanitária Ministério da Saúde. Guia de dissolução aplicável a medicamentos genéricos, novos e similares, v. 2, 2021.
- [3] USP. UNITED STATES PHARMACOPEIA-NF Online Version, 2023.
- [4] EMA. European Medicines Agency. Reflection paper on the dissolution specification for generic solid oral immediate release products with systemic action. London, 2017.
- [5] ICH. INTERNATIONAL COUNCIL FOR HARMONISATION OF TECHNICAL REQUIREMENTS FOR PHARMACEUTICALS FOR HUMAN USE. ICH guideline Q2(R2) on validation of analytical procedure, 2022.

Boas Práticas Cromatográficas: Seu laboratório realiza?

Gama, Rodolpho Guilherme Menezes¹; Ramos, Aline de Souza²; Amaral, Ana Claudia Fernandes³.

1) Laboratório de Controle de Qualidade Físico-químico, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. rodolpho.gama@fiocruz.br

2) Departamento de Educação, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. aline.ramos@fiocruz.br

3) Laboratório de Plantas Mediciniais e Derivados, Departamento de Produtos Naturais, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. ana.amaral@fiocruz.br

A Cromatografia Líquida de Alta Eficiência (CLAE) é uma técnica analítica presente em Laboratórios de Controle de Qualidade Farmacêutico (LCQF). [1] Por ser uma técnica complexa, requer boas práticas que promovam a maximização de sua eficiência [2], assim como ao atendimento dos órgãos regulatórios [3, 4], sobretudo na temática de integridade de dados [5]. Neste contexto, o objetivo do presente trabalho é discutir as Boas Práticas Cromatográficas (BPC) para sistemas de CLAE frente a regulação farmacêutica e apresentar uma ferramenta de diagnóstico de BPC que possa contribuir na autoavaliação de um LCQF. Foram adotadas as metodologias de pesquisa documental e bibliográfica em bases científicas, questões pertinentes à legislação farmacêutica vigente, além de guias e recomendações emitidos pelos fabricantes e especialistas em CLAE. A respectiva revisão identificou sete eixos de atuação de BPC, que culminou na elaboração de uma ferramenta de diagnóstico com 124 questões, sendo 87 questões com impacto regulatório e 37 questões que trazem melhorias apontadas por especialistas. A partir da revisão, foi elaborado uma ferramenta de diagnóstico de BPC com 124 questões que permitem o mapeamento dos 7 eixos identificados para a vivência de BPC para um LCQF, sendo eles: Avaliação básica sobre a internalização, implementação, gestão e melhoria das BPC no laboratório; BPC nos processos de instalação, operacionalização, qualificação e validação dos equipamentos e softwares utilizados; BPC relativas ao manuseio, manutenções e soluções de problemas analíticos e operacionais nos sistemas de CLAE; BPC nos processos relativos à gestão de dados gerados, incluindo as orientações relativas a acesso, geração, integridade e rastreabilidade; BPC nos processos de preparação, uso e armazenamento de soluções analíticas e soluções reagentes; BPC relacionadas à gestão e uso de consumíveis; e BPC relativas à aquisição e ao processamento de padrões e amostras, modo de integração e impressão de resultados. A aplicação da ferramenta de diagnóstico de BPC proporciona um mapeamento e análise de rotina dos procedimentos relacionados a execução da técnica de CLAE para um LCQF, contribuindo na indicação de itens para o adequado atendimento aos requisitos exigidos pelos órgãos regulatórios, assim como da otimização dos seus processos cromatográficos. Agradecimentos: Departamento de Controle de Qualidade de Farmanguinhos

Palavras-chaves: Cromatografia Líquida de Alta Eficiência, Boas Práticas Cromatográficas, Ferramenta de Diagnóstico, Controle de Qualidade Farmacêutico, Indústria Farmacêutica.

Referências:

[1] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Farmacopeia Brasileira, 6ª Edição. Brasília; v. 1, 2019.

[2] Gama, R. G. M.; Chaves, M. H. da C. Boas Práticas Para Cromatografia Líquida De Alta Eficiência: Uma Abordagem Para O Controle de Qualidade Farmacêutico. *Scientia Chromatographica*. v. 11, n. 3, p 108-125, 2019. DOI: <https://doi.org/10.5935/sc.2019.010>.

[3] BRASIL. Ministério da Saúde. Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução RDC Nº 658, de 30 de março de 2022 - Dispõe Sobre as Diretrizes Gerais de Boas Práticas de Fabricação de Medicamentos; Diário Oficial da União, seção 1, p. 320, 2022.

[4] World Health Organization (WHO). Good Chromatography Practices; WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations. Fifty-fourth report; Annex 4; p 115-127, 2019. Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240001824>. Acesso em 15 de março de 2023.

[5] FDA. Data Integrity and Compliance with Drug CGMP - Questions and Answers Guidance for Industry, p 1-13. 2018. Disponível em: <https://www.fda.gov/media/119267/download>. Acesso em 18 de março de 2023.

EIXO TEMÁTICO - FARMACOLOGIA

Análise de dados relacionados ao tratamento medicamentoso das Jornadas do Paciente com Doença Inflamatória Intestinal

Souza, Alessandra¹; Becari, Leticia²; Vieira, Andrea³; Machado, Marta Brenner³; Mazzei, José Luiz¹; Souza, Mariana Conceição¹

1) Programa de Pós-graduação em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos, Farmanguinhos - Instituto de Tecnologia em Fármacos/Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. alede75souza@gmail.com, jose.mazzei@fiocruz.br, mariana.souza@fiocruz.br

2) Secretaria Municipal de Saúde de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil.

3) Associação Brasileira de Colite Ulcerativa e Doença de Crohn, São Paulo, SP, Brasil. andreavieira20@gmail.com

As Doenças Inflamatórias Intestinais (DIIs) são caracterizadas por inflamação crônica não infecciosa do trato gastrointestinal e incluem, principalmente, a doença de Crohn e a retocolite ulcerativa. Mesmo que o Brasil seja considerado um país com baixa incidência e prevalência de DIIs, tem ocorrido um aumento evidente no número de consultas e hospitalizações [1]. Dentre os poucos estudos epidemiológicos brasileiros [1-4], as Jornadas do Paciente com Doença Inflamatória Intestinal (JPDIIs) tiveram como objetivo entender os obstáculos e dificuldades que o paciente com DII enfrenta de caráter físico, médico, emocional, psicológico e financeiro [3,4]. A avaliação das respostas desses estudos é imprescindível, visando as considerações do Health 2020 quanto ao cuidado centrado no paciente como elemento-chave para melhorar os resultados de saúde, a satisfação do paciente com os cuidados de saúde e a comunicação entre pacientes e profissionais de saúde, trazendo uma melhor adesão ao tratamento [5]. Dentre esses cuidados, há preocupação nos Problemas Relacionados aos Medicamentos (PRMs), os quais geram uma lacuna no Uso Racional de Medicamentos e afetam a adesão ao tratamento e segurança. Análise estatística inferencial das respostas obtidas nas duas JPDIIs para identificar a significância de PRMs sobre os pacientes com DII. Os dados foram cedidos pela Associação Brasileira de Colite Ulcerativa e Doença de Crohn (ABCD) que os obteve através de questionários disponibilizados online no seu site, em 2017 e 2023, com pouco mais de 3500 respondentes cada. Serão relacionadas as respostas sobre o histórico do tratamento medicamentoso, os PRMs e as características individuais de cunho socioeconômico e demográfico. Além disso, um novo questionário aprovado pelo CEP/Fiocruz (CAAE 68210923.6.0000.5248), intitulado “Caracterização dos pacientes com Doença Inflamatória Intestinal e Percepção Destes Sobre a Comunicação de Problemas Relacionados a Medicamentos”, está em fase de validação por especialistas. Através da identificação dos PRMs nas JPDIIs e com os resultados do questionário que será aplicado, se terá uma avaliação da percepção do paciente com o tratamento e o entendimento da literacia em saúde. Os resultados esperados servirão de dados para a construção de ferramenta que melhore a comunicação entre pacientes com DII e profissionais da saúde em relação aos PRMs.

Palavras-chave: Doença Inflamatória Intestinal, Problemas Relacionados a Medicamentos, Doença de Crohn, Retocolite Ulcerativa, Literacia em Saúde.

Referências

[1] Quaresma, AB et al. Temporal trends in the epidemiology of inflammatory bowel diseases in the public healthcare system in Brazil: A large population-based study. *The Lancet. Regional Health Americas*, v. 13, 100298, 2022.

[2] Gasparini, RG; Sasaki, LY; Saad-Hossne, R. Inflammatory bowel disease epidemiology in São Paulo State, Brazil. *Clinical and Experimental Gastroenterology*, v. 11, p. 423-429, 2018.

[3] Associação Brasileira de Colite Ulcerativa e Doença de Crohn (ABCD). Jornada do Paciente com Doença Inflamatória Intestinal. Estudo quantitativo e qualitativo sobre a vida do paciente com DII no Brasil. São Paulo: ABCD, 2017. Disponível em <https://www.abcd.org.br/jornada-2017/>. Acesso em 08 set. 2023.

[4] Jornada do Paciente 2023. São Paulo: ABCD, 2023. Disponível em <https://www.abcd.org.br/jornada>. Acesso em 08 set. 2023.

[5] World Health Organization (WHO). Regional Office for Europe. Health 2020: a European policy framework and strategy for the 21st century. Copenhagen: WHO, 2013.

Estudo do efeito do galato de metila sobre a atividade de neutrófilos humanos *in vitro*

Silva-Santos, Amanda Maria¹; Correa, Luana Barbosa¹; Seito, Leonardo Noboru¹; Henriques, Maria das Graças^{1,2}; Rosas, Elaine Cruz¹

1) Laboratório de Farmacologia Aplicada, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro – RJ, Brasil. ecrosas@gmail.com silvamaríaamandaa@gmail.com

2) Laboratório de Farmacologia Celular e Molecular, Departamento de Biologia Celular, IBRAG – Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro - RJ, Brasil.

Os neutrófilos são leucócitos polimorfonucleares essenciais ao sistema imune inato. Estão entre as primeiras células a migrar para o tecido em caso de injúria através de uma sequência de ações que levam a um rearranjo regulado pelo citoesqueleto. Uma vez no tecido inflamado, os neutrófilos têm a função primária de conter a infecção através da fagocitose, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e liberação de armadilhas extracelulares (NETs) ou grânulos ricos em enzimas [1]. No entanto, em algumas patologias como infecções sistêmicas ou doenças autoimunes, a ativação excessiva e constante dos neutrófilos leva a danos teciduais que agravam estas patologias. Neste contexto, abordagens que regulam o acúmulo e a atividade de neutrófilos em condições patológicas são relevantes [2]. O Galato de Metila (GM), um derivado do ácido fenólico presente em espécies vegetais desempenha atividade anti-inflamatória [3]. Em trabalhos anteriores foi demonstrado que o GM é capaz de reduzir a migração de neutrófilos na inflamação articular murina. Além disso o GM inibiu a adesão de neutrófilos ao endotélio murino *in vitro* [3,4]. O objetivo deste estudo foi avaliar a atividade do Galato de Metila sobre neutrófilos *in vitro*. Neutrófilos humanos de voluntários sadios entre 18 e 50 anos foram isolados de sangue periféricos coletados de acordo com o CEP – CAAE: 56727722.6.0000.5248 e pré-tratados com GM em diferentes concentrações (0,01 – 100 μM) a fim de avaliar a viabilidade pelo método de LDH, a quimiotaxia em Câmara de Boyden, Polimerização de F-actina em Microscopia de fluorescência e a Netose através da liberação de DNA utilizando SYTOXGREEN por espectrofotometria. Os resultados obtidos mostraram que o GM não foi citotóxico nas concentrações usadas (0,01 - 100 μM) e inibiu a quimiotaxia de neutrófilos humanos estimulados por IL8 (12 ng/ml). Além disso, foi possível observar que as concentrações de 50 e 100 μM reduziram a polimerização de f-actina nas células estimuladas com IL8 (12 ng/ml) e a Netose em neutrófilos estimulados com PMA (5 nM). Os resultados sugerem que o GM é capaz de inibir *in vitro* a quimiotaxia, a polimerização e a Netose em neutrófilos humanos. Agradecemos ao CNPq, FAPERJ e CAPES pelo apoio financeiro.

Palavras-chave: Neutrófilo; Galato de Metila; Inflamação

Referências:

[1] Vermeren, S; Elks, PM; Ellett. F. Editorial: Neutrophil Functions in Host Immunity, Inflammation and Tissue Repair. *Front. Immunol.*, 2021.

[2] Clayton, SA, *et al.* Mitochondria as Key Players in the Pathogenesis and Treatment of Rheumatoid Arthritis. *Front. Immunol.*, 2021.

[3] Correa LB, *et al.* Anti-Inflammatory Effect of Methyl Gallate on Experimental Arthritis: Inhibition of Neutrophil Recruitment, Production of Inflammatory Mediators, and Activation of Macrophages. *J Nat Prod.*, 2016.

[4] Correa, L.B *et al.* Methyl gallate attenuates inflammation induced by Toll-like receptor ligands by inhibiting MAPK and NF- κ B signaling pathways. *INFLAMMATION RESEARCH*, 2020.

Avaliação dos receptores canabinoides sobre a ativação de neutrófilos como mecanismo para a modulação da MA-ALI experimental

Correa, Aryella Maryah Couto^{1,2}, Silva, Pamela Real de Oliveira², Santos, Soraya de Oliveira da Silva², Seito, Leonardo Noboru², Sampaio, André Luiz Franco³, Pádua, Tatiana Almeida², Rosas, Elaine Cruz², Henriques, Maria das Graças Muller de Oliveira^{1,2}

1) Laboratório de Farmacologia Celular e Molecular, Departamento de Biologia Celular, IBRAG – Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil;

2) Laboratório de Farmacologia Aplicada, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil;

3) Laboratório de Farmacologia Molecular, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil. Email: aryella.maryah@gmail.com; tatiana.padua@fiocruz.br; gracamohenriques@gmail.com.

A inflamação é importante para a malária grave. Ela induz uma resposta imune exacerbada e assim, causa efeitos deletérios para o hospedeiro. Similar à infecção por *Plasmodium berghei* ANKA(*PbA*) [1], os neutrófilos durante a infecção por *PbNK65*, migram da medula para circulação induzidos em parte por CXCL-1/KC o que corrobora com a lesão pulmonar induzida por malária (MA-ALI). O sistema endocanabinoide é descrito por manter a homeostase. Atua via os receptores CB1 e CB2 que modulam a ação dos neutrófilos em doenças inflamatórias infecciosas. Entretanto, os mecanismos pelos quais os neutrófilos são estimulados durante a MA-ALI e como os receptores CB1 e CB2 podem interferir nessa resposta ainda são desconhecidos. Assim, esse trabalho visa estudar os receptores CB1 e CB2 *in silico* e investigar o papel do CB2 sobre os neutrófilos durante a MA-ALI. Para isso, foi realizado *in silico*, o *Target Fishing*, para avaliar a probabilidade de ligação dos agonistas de CB1 e CB2 usados nesse estudo a receptores biológicos de diferentes espécies. Os ensaios *in vitro* e *in vivo* foram conduzidos de acordo com: CEP-CAAE: 56727722.6.0000.5248 e CEUA/Fiocruz: LW 33-21. Considerando os ensaios com o JWH133 *in vitro*, foram realizados cálculos para predição de dose desse agonista CB2 para o modelo *in vivo*. Camundongos C57BL/6 foram tratados por 8 dias com [0,25;0,5 ou 1 mg/Kg de JWH133, i.p.]. Após 1h, os animais foram infectados com 1×10^4 de hemácias parasitadas por *PbNK65*. A parasitemia foi avaliada após 4 e 8 dias da infecção e no dia 8 também foram avaliadas o peso relativo dos órgãos, edema pulmonar e contagem de leucócitos no sangue periférico. A predição *in silico* dos agonistas ACEA e JWH 133 sugeriu uma promiscuidade do ACEA e uma seletividade do JWH 133. Além disso, a ligação do receptor CB2 com o JWH133 [10 μ M] inibe a ativação e quimiotaxia em neutrófilos humanos. Por outro lado, a avaliação do receptor CB1 foi inconclusiva. Os ensaios *in vivo* demonstraram que o JWH 133, nas doses testadas não alterou a parasitemia. Entretanto, a dose de 0,5 mg/Kg aumentou o peso relativo do pulmão, a contagem de leucócitos totais periféricos apesar de reduzir o edema pulmonar. Já a dose de 0,25 mg/Kg reduziu a contagem de neutrófilos circulantes. Os resultados sugerem que o JWH 133 parece modular parâmetros da malária grave pulmonar e o influxo de neutrófilos para o sangue periférico. Entretanto, mais experimentos se fazem necessários para elucidar os mecanismos de ação envolvidos. Suporte Financeiro: CNPq, FAPERJ, CAPES.

Palavras- chaves: MA-ALI, Inflamação, Neutrófilos e Receptores Canabinoides

Referências:

[1] Pádua TA, *et al.* Therapeutic effect of Lipoxin A₄ in malaria-induced acute lung injury. J Leukoc Bio. v.103, n. 4, p. 657-670, 2018.

Avaliação *in vitro* da atividade farmacológica de aurelianolídeos isolados de *Athenaea fasciculata* var. *fasciculata* em linhagens de leucemia humanas

Silva, Gustavo Werneck de Souza ^{e1}; Marques, André Mesquita²; Fontão, Ana Paula Gregório Alves¹; Figueiredo, Maria Raquel²; Sampaio, André Luiz Franco¹

1) Laboratório de Farmacologia Molecular, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. andre.sampaio@fiocruz.br

2) Laboratório de Tecnologia para Biodiversidade em Saúde/LDFito, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Dentre os tipos de câncer, podemos destacar as leucemias, que afetam células hematopoiéticas com 11 mil novos casos por ano no Brasil [1]. Os vitanolídeos são substâncias triterpênicas caracterizadas como lactonas esteroidais contendo 28 carbonos [2]. Dois vitanolídeos, aurelianolídeo A e B, foram isolados de *Athenaea fasciculata* var. *fasciculata* e serão avaliados em linhagens leucêmicas humanas. Este trabalho busca avaliar *in vitro* os efeitos dos aurelianolídeos sobre linhagens celulares leucêmicas humanas. Foram realizados ensaios de MTT, western blotting e citometria de fluxo para avaliação de apoptose, necrose, despolarização mitocondrial, produção de espécies reativas de oxigênio (ROS) e ciclo celular. Os aurelianolídeos A e B foram isolados das folhas de *Athenaea fasciculata* var. *fasciculata*. Ambos aurelianolídeos foram capazes de inibir o crescimento de cinco linhagens leucêmicas: Jurkat, MOLT-4, THP-1, K562 e K562-Lucena 1, com baixo IC₅₀, na faixa milimolar e grande índice de seletividade. Ensaios de apoptose com marcação anexina V/PI, demonstraram um grande aumento de apoptose após o tratamento com os aurelianolídeos isolados, sem presença de necrose significativa nas células Jurkat e K562Lucena 1. Os aurelianolídeos foram capazes de ativar as caspases efetoras 3/7 de forma significativa, com o aurelianolídeo A atingindo 69,2% de ativação na linhagem Jurkat, enquanto o aurelianolídeo B atinge valores próximos de 60%. Nas análises de expressão de proteínas por western blotting, observamos um grande aumento de BAX, uma proteína pró-apoptótica, e uma diminuição de BCL-2, proteína anti-apoptótica que impede a ação de BAX. Além disso, a caspase 3 clivada está presente em maior quantidade nos tratamentos. Também foi observado um aumento de despolarização mitocondrial, com cerca de 80% das células com mitocôndrias despolarizadas após 24 horas, e um aumento na produção de ROS. Por último, verificou-se que não há alteração no ciclo celular apesar das alterações apresentadas. Os aurelianolídeos são capazes de inibir o crescimento das linhagens leucêmicas com ótima potência e seletividade, ativar a via intrínseca da apoptose, e causar alterações nas mitocôndrias relacionadas com indução de estresses oxidativo, sem interferência no ciclo celular. Assim, os aurelianolídeos são considerados bons candidatos ao desenvolvimento de fármacos com excelentes resultados *in vitro*.

Palavras-chave: Vitanolídeos, Aurelianolídeos, Leucemia, Câncer, Apoptose

Referências:

[1] Instituto Nacional de Câncer (Brasil). Estimativa 2023: incidência de câncer no Brasil/Instituto Nacional de Câncer. – Rio de Janeiro: INCA, 2022.

[2] HUSSAIN, H. et al. Journey describing the cytotoxic potential of withanolides: a patent review. Recent patents on anti-cancer drug discovery, v. 13, n. 4, p. 411421, 2018.

Indução de senescência prematura em células de glioblastoma humano A-172 por temozolomida

Silva, Pamela Real de Oliveira^{1,3}, Correa, Aryella Maryah Couto^{1,4}, Costa, Thadeu Estevam Moreira Maramaldo^{1,2}, Penido, Carmen^{1,2}

1) Laboratório de Farmacologia Aplicada, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

2) Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

3) Pós- graduação em Pesquisa Translacional de Fármacos e Medicamentos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, Brasil

4) Programa de Pós- graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil
pamelareal917@yahoo.com; carmen.penido@fiocruz.br

O glioblastoma é um tumor do sistema nervoso central classificado como grau IV pela Organização Mundial da Saúde. O tratamento preconizado é a ressecção cirúrgica, seguida de quimioterapia com temozolomida (TMZ) e radioterapia. Além disso, a TMZ induz dano ao DNA, resultando em apoptose e senescência celular, fenômeno fisiológico induzido por múltiplas divisões celulares (replicativa) ou mecanismos de estresse celular com dano ao material genético (prematura). Este fenômeno é caracterizado pela parada do ciclo celular, aumento do tamanho da célula, expressão da enzima β -galactosidase e da produção de mediadores inflamatórios, contribuindo para o mau prognóstico do paciente. O objetivo do presente trabalho foi padronizar a indução de senescência celular por TMZ em células de glioblastoma da linhagem A-172, seguindo o protocolo descrito por Aasland *et al.* [1]. Células A-172 foram semeadas em placas de 96 poços (2×10^4 /poço), tratadas com TMZ (12,5 - 100 μ M) por 7 dias e avaliadas quanto a: *i*) tamanho (fotomicrografias por ImageJ); *ii*) metabolização do MTT; *iii*) atividade de β -galactosidase através de seu substrato CPRG e *iv*) a produção de interleucina 6 (IL-6) no sobrenadante (ELISA). Nossos resultados demonstram que a TMZ reduziu a metabolização do MTT sobre a linhagem A-172 em todas as concentrações testadas em até 50%. Além disso, a TMZ induziu aumento do tamanho das células, atividade de β -galactosidase e produção de IL-6, confirmando a indução de senescência. De fato, a TMZ é utilizada como fármaco de referência para o tratamento do glioblastoma por sua capacidade de induzir apoptose, senescência celular, e inibir a proliferação de células com o gene p53 funcional e deficientes do gene MGMT [2]. Nossos dados, obtidos com o ensaio de MTT, estão de acordo com esses achados. Além disso, de acordo com Wang *et al.* [3], também foi confirmado o aumento da atividade de β -galactosidase em células de glioma tratadas com 100 μ M de TMZ por 24h. Sabe-se que o estado de senescência celular leva à produção de mediadores inflamatórios como a IL-6 [4]. De acordo, observamos que células tratadas com TMZ (12,5 e 25 μ M) aumentaram a produção de IL-6, confirmando a indução do perfil senescente. Conclui-se que a TMZ induz senescência prematura na linhagem de glioblastoma humano A-172, através da redução do metabolismo celular, do aumento do tamanho da célula, da atividade de β -galactosidase e da produção de mediador pró-inflamatório (IL-6). Apoio financeiro: CAPES e Fiocruz.

Palavras- chaves: Glioblastoma, atividade senolítica, *inflammaging*, agentes alquilantes.

Referências:

[1] Aasland, D, *et al.* Temozolomide Induces Senescence and Repression of DNA Repair Pathways in Glioblastoma Cells via Activation of ATR–CHK1, p21, and NF- κ B. *Cancer research*, v.79, p.99-113, 2019.

[2] Günther, W, *et al.* Temozolomide induces apoptosis and senescence in glioma cells cultured as multicellular spheroids. *Cancer research*, v.88, n.3, p.463-469, 2003.

[3] Wang B; Kohli J; Demaria M. Senescent cells in cancer therapy: friends or foes? *Trends in cancer*, v.6, n.10, p. 838-857, 2020.

[4] Pasi, F; Facchetti, A; Nano, R. IL-8 and IL-6 bystander signalling in human glioblastoma cells exposed to gamma radiation. *Anticancer Res.*, v.30, p.2769–2772, 2010.

Ensaio clínico de desenvolvimento de fármacos e imunobiológicos para o tratamento de câncer de mama triplo negativo: biomarcadores e potenciais tratamentos.

Obadia, Renata de Castro Moura¹; Penido, Carmen²

1) Instituto Nacional de Câncer – INCA. Coordenação de Pesquisa e Inovação – CPQI, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. robadia@inca.gov.br

2) Laboratório Farmacologia Aplicada. Programa de Pós-Graduação Acadêmico em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos (PPG-PTFM) – Farmanguinhos/Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde (CDTS), Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. cpenido@gmail.com; carmen.penido@fiocruz.br

O câncer de mama é a causa mais frequente de morte por câncer na população feminina e, até 2040, mais de 3 milhões de casos e 1 milhão de mortes estão previstas a cada ano no mundo [1]. No Brasil, são estimados 73.610 novos casos de câncer de mama para o triênio de 2023 a 2025, correspondendo a um risco estimado de 66,54 casos novos a cada 100 mil mulheres [2]. O câncer de mama triplo negativo (CMTN) é um subtipo particularmente agressivo e representa 15-20% deste tipo de câncer, tem maiores taxas de recidiva e de metástases à distância do que outros tipos de câncer de mama. Quando há metástase, a média de sobrevida global é de apenas 9 a 17 meses [3]. Dada às suas características, as opções de tratamento padrão são limitadas à quimioterapia, no entanto, o manejo deste câncer está mudando com base na subtipagem molecular, e no desenvolvimento de terapias direcionadas. A imunoterapia continua a demonstrar eficácia em uma variedade de cânceres e, pode ser uma estratégia promissora para o CMTN [4]. Considerando a importância da oncologia de precisão e dos ensaios clínicos existentes nesta área, assim como a aplicabilidade e oferta dos tratamentos associados a imunobiológicos para o CMTN, o objetivo deste trabalho é traçar um panorama dos ensaios clínicos de fármacos e/ou imunobiológicos para o tratamento de CMTN localmente avançado ou metastático, depositados em bancos de dados nacionais e internacionais de 2013 a 2023 e realizar a sua correlação com biomarcadores. Para isso, a metodologia adotada será a exploratória e descritiva, baseada no levantamento de base de dados das seguintes plataformas: *ClinicalTrials.gov*, *European Union Clinical Trials Register*, Registro Brasileiro de Ensaio Clínicos, *Food and Drug Administration*, *European Medicines Agency* e Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Os dados serão tabulados por meio de planilhas em Microsoft Excel[®], expressos por meio de gráficos e tabelas, e correlacionados com a literatura vigente. Até o momento, não há resultados preliminares, uma vez que estamos na fase inicial do projeto, que consta em coleta de dados. Espera-se que a identificação de biomarcadores e a sua correlação com os tratamentos aprovados, auxiliem na decisão de tratamento na prática clínica e identifique a população-alvo que poderá se beneficiar. Espera-se ainda que, em paralelo, nosso estudo forneça informações que poderão nortear ações para futuras pesquisas no avanço da eficácia da imunoterapia para pacientes com CMTN.

Palavras-chave: Câncer de Mama Triplo Negativo, Ensaio Clínicos, Biomarcadores, Imunobiológicos

Referências:

- [1] World Health Organization. Cancer. WHO, 2022. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/cancer>. Acesso em: 24 abr 2023.
- [2] INSTITUTO NACIONAL DE CÂNCER JOSÉ ALENCAR GOMES DA SILVA. Estimativa 2023: incidência do Câncer no Brasil. Rio de Janeiro: INCA, 2019. Disponível em: <https://www.gov.br/inca/pt-br/assuntos/cancer/numeros/estimativa> Acesso em: 24 abr 2023.
- [3] Kumar, P., Aggarwal, R. An overview of triple-negative breast cancer. *Arch Gynecol Obstet* 293, 247–269 (2016). <https://doi.org/10.1007/s00404-015-3859-y>
- [4] Lyons TG. Targeted Therapies for Triple-Negative Breast Cancer. *Curr Treat Options Oncol*. 2019 Nov 21;20(11):82. doi: 10.1007/s11864-019-0682-x. PMID: 31754897.

Efeitos biológicos *in vitro* de preparações homeopáticas de *Viscum album* em células de túbulo proximal de rim de porco

Pinto Duarte, Rodrigo dos Santos ¹, Melo, Michelle Nonato de Oliveira ¹, Batista, João Vitor da Costa ², Martins, Giovanna Gomes ¹, Oliveira, Adriana Passos ¹, da Silva, Rosilane Taveira ³, Einicker-Lamas, Marcelo ³, Baumgartner, Stephan ², Holandino, Carla ¹

1) Laboratório Multidisciplinar em Ciências Farmacêuticas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Brasil. rodrigo.spd@hotmail.com; cholandino@gmail.com

2) Society for Cancer Research (Hiscia Institute), Arlesheim, Switzerland

3) Instituto de Biofísica Carlos Chagas Filho, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil

Preparações de *Viscum album* (VA) de diferentes árvores hospedeiras têm sido utilizadas para o tratamento de diferentes doenças, principalmente câncer [1] e doenças cardiovasculares [2]. Entretanto, os mecanismos relacionados ao potencial hipotensor do VA são pouco investigados. Baseado nisso, o objetivo deste trabalho é avaliar a citotoxicidade, a atividade da Na⁺/K⁺ ATPase e a geração de Espécies Reativas de Oxigênio (ROS) induzidas pelas tinturas-mãe de inverno e verão de *Viscum album* (TMVA), bem como por suas amostras dinamizadas homeopaticamente (6CH, 12CH e 30CH), em células renais do túbulo proximal suíno (LLC-PK1). Para avaliação da citotoxicidade, após 24h de tratamento com TMVA (*Quercus robur*, *Malus domestica*, *Ulmus carpinifolia*, *Pinus sylvestris* e *Abies alba*), em concentrações variando de 0,5% a 2,5% (v/v), o 3-(4,brometo de 5-dimetil-2-tiazolil)-2,5-difenil-2H-tetrazólio (MTT) foi adicionado. O mesmo procedimento foi feito com as amostras dinamizadas, após avaliação sistemática do controle, no qual a água dinamizada foi testada cegamente. Para os ensaios de Na⁺/K⁺ ATPase e ROS, as células foram tratadas apenas por 30min, utilizando 1,5% (v/v) de TMVA de *Malus domestica*, *Pinus sylvestris* e *Abies alba* e suas respectivas potências homeopáticas. A concentração de 1,5% (v/v) foi escolhida, já que estudos anteriores mostraram efeitos dessa concentração em outras linhagens celulares. O ensaio do MTT mostrou citotoxicidade dose-dependente relacionada apenas a TMVA de *Quercus robur* (1,5 – 2% (v/v)) de verão (p<0,05). Como para os ensaios enzimáticos e de ROS as células precisam estar metabolicamente ativas, esta TMVA foi excluída das demais avaliações experimentais. Em relação à geração de ROS (n=5), nenhum efeito significativo foi desencadeado pelas TMVA e pelas amostras dinamizadas (p>0,05). A atividade da Na⁺/K⁺ ATPase (n=5) não foi alterada após 30min de incubação, porém no período de 24h a amostra de verão de *Abies alba* mostrou uma redução na atividade proteica em comparação ao controle negativo. Novos estudos serão realizados com tempos superiores de 48h, além da avaliação das amostras de inverno e amostras dinamizadas de 24h a fim de confirmar os resultados obtidos com as amostras de *V. album* dinamizadas e não dinamizadas. Além disso, a expressão gênica da Na⁺/K⁺ ATPase por *western blot* e a avaliação ultraestrutural das células LLC-PK1 estão sendo realizadas para complementar os resultados já encontrados. Agradecimentos: Capes, Hiscia Institute.

Palavras-chave: *Viscum album*, sistemas dinamizados, citotoxicidade, Na⁺/K⁺ ATPase, ROS.

Referências:

- [1] Ostermann, T; et al. A Systematic Review and Meta-Analysis on the Survival of Cancer Patients Treated with a Fermented *Viscum album* L. Extract (Iscador): An Update of Findings. *Complement Med Res.* 2020, 27(4):260-271. doi:10.1159/000505202.
- [2] Poruthukaren, KJ; et al. Clinical Evaluation of *Viscum album* Mother Tincture as an Antihypertensive: A Pilot Study. *J. Evidence-Based Complement. Altern. Med.* 19 (2014) 31–35. <https://doi.org/10.1177/2156587213507726>.

Efeito analgésico da *Schinus terebinthifolius* Raddi e ácido gálico na hiperalgesia induzida por zimosan

Nascimento, Sarah N.^{1,2}; Pádua, Tatiana A.²; Correa, Luana B.²; Costa, Thadeu E. M. M.²; Pereira, Felipe M. dos S.²; Heringer, Alan P.³; Figueiredo, Maria Raquel³; Manchope, Marília F.⁴; Jr, Waldiceu A. Verri⁴; Henriques, Maria G.^{1,2}; Rosas, Elaine C.^{1,2}.

1) Laboratório de Farmacologia Celular e Molecular, Departamento de Biologia Celular, IBRAG – Programa de Pós-graduação em Biociências, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil. sarah.nevesn@gmail.com; elaine.rosas@fiocruz.br

2) Laboratório de Farmacologia Aplicada, Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

3) Laboratório de Produtos Naturais (TecBio), Instituto de Tecnologia em Fármacos -Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

4) Departamento de Patologia, Centro de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Londrina, Paraná, Brasil.

A *Schinus terebinthifolius* Raddi é da família Anacardiaceae, conhecida popularmente como aroeira. Essa espécie é nativa da América do Sul e Central, amplamente utilizada devido sua ação adstringente, antimicrobiana, cicatrizante e anti-inflamatória[1]. Apesar de seu uso popular no tratamento das inflamações, são poucas as evidências científicas que apoiam o seu potencial anti-inflamatório. Recentemente mostramos que o extrato hidroetanólico da *S. terebinthifolius* (ST-70) é rico em ácido gálico (AG) e que é capaz de inibir a migração celular e a produção de citocinas e quimiocinas em modelos inflamatórios induzidos por zimosan[2]. Neste trabalho, tivemos como objetivo avaliar o efeito do ST-70 e AG na resposta inflamatória induzida por zimosan e pelos agonistas histamina (Hist.), bradicinina (BK) ou fator ativador de plaquetas (PAF) em camundongos. O ST-70 foi obtido de folhas de *S. terebinthifolius* extraídas em etanol 70%. Camundongos Swiss-44, machos (CEUA: LW-43/14) previamente tratados (p.o.) com ST-70, AG ou com inibidores de referência: Prometazina, HOE 140 e WEB 2170, antagonistas dos receptores da Hist., BK e PAF respectivamente seguido de injeção intratorácica (i.t.) ou intraplantar (i.pl.) de zimosan. Além disso, camundongos previamente tratados com AG (p.o.) receberam injeção i.pl de Hist., BK ou PAF. A hiperalgesia foi analisada pela versão eletrônica do teste de von Frey e placa quente a 52 ± 1 °C. O edema de pata foi determinado por pletismografia e as proteínas do lavado pleural pelo ensaio de Bradford. A migração celular para o tecido da pata foi avaliada a atividade de Mieloperoxidase (MPO). O ST-70 e AG foram capazes de inibir a hiperalgesia mecânica e térmica após o estímulo com zimosan. Corroborando com resultados já vistos, em que ST-70 reduziu a liberação de TNF- α e IL-1 β que atuam em nociceptores o que pode colaborar para o efeito analgésico[2]. Ademais, o ST-70 reduziu o edema de pata em até 4 horas após estímulo e inibiu a exsudação plasmática induzidos por zimosan. O ST-70 e o AG reduziram a permeabilidade vascular induzida por Hist, sugerindo a atividade do extrato devido ação direta do AG. O AG inibiu o edema de pata induzido por Hist., PAF e BK. A inibição da atividade MPO, após o pré-tratamento com ST-70 ou AG, sugere inibição da migração celular para o tecido da pata. Os resultados sugerem que o ST-70 e AG têm efeito anti-inflamatória por inibirem a hiperalgesia, migração de células e a ação de agentes vasoativos como Hist., PAF e BK.

Palavras-chave: *Schinus terebinthifolius* Raddi; ácido gálico; hiperalgesia; edema; zimosan.

Referências:

[1] CARLINI, Elisaldo A. et al. Antiulcer effect of the pepper trees *Schinus terebinthifolius* Raddi (aroeira-da-praia) and *Myracrodruon urundeuva* Allemão, Anacardiaceae (aroeira-do- sertão). Revista Brasileira de Farmacognosia, v. 20, p. 140-146, 2010.

[2] ROSAS, Elaine Cruz et al. Anti-inflammatory effect of *Schinus terebinthifolius* Raddi hydroalcoholic extract on neutrophil migration in zymosan-induced arthritis. Journal of ethnopharmacology, v. 175, p. 490-498, 2015.

Efeito do galato de metila na artrite causada por chikungunya vírus em camundongos

Oliveira, Thamiris A. L. de¹; Correa, Luana B.¹; Pereira, Letícia M.¹; Nunes, Priscila C. G.²; Azeredo, Elzinandes L.²; Rosas, Elaine C.¹.

1) Laboratório de Farmacologia Aplicada. Instituto de Tecnologia de Fármacos (Farmanguinhos/Fiocruz). thamiris_andrade2011@hotmail.com / elaine.rosas@fiocruz.br

2) Laboratório de Imunologia Viral. Instituto Oswaldo Cruz (LIV/IOC/Fiocruz).

A infecção pelo vírus Chikungunya (CHIKV) induz uma doença chamada Chikungunya, que está associada a dores nas articulações. O galato de metila (GM), é um derivado de ácido fenólico que está presente em algumas espécies vegetais, e, é conhecido por sua ação antioxidante. Recentemente, descrevemos que o GM reduziu a inflamação articular e a produção de citocinas pró-inflamatórias na artrite experimental. O objetivo deste estudo foi avaliar o efeito do GM na infecção pelo CHIKV *in vitro* e *in vivo*. Células Vero foram previamente incubadas com diferentes concentrações de GM (10-100 µM), após 24 e 48 horas a viabilidade celular foi avaliada por MTT. Após pré-tratamento com GM (100 µM) células Vero foram infectadas com CHIKV. A ação do GM sob a replicação viral foi avaliada 24 e 48 horas pós infecção por RTq-PCR. Camundongos C57BL/6 receberam 10⁵ p.f.u (unidade formadora de placa) [1] de CHIKV (20 µl/pata) por via subcutânea intraplantar e após diferentes períodos (0 – 9 dias) foram quantificados o edema da pata, o número de leucócitos sanguíneos e linfáticos e a produção de citocinas. Além disso, as patas foram retiradas para análise de mediadores inflamatórios, através do Elisa. A ação do GM nessa reação foi avaliada em camundongos infectados que receberam administração oral (10 mg/Kg) por 7 dias. Os procedimentos realizados com os animais foram de acordo com a CEUA LW-32/23. Nossos resultados mostraram que GM não alterou a viabilidade celular e nem a replicação do vírus nas células Vero *in vitro*. Camundongos C57BL/6 infectados com 10⁵ p.f.u. de CHIKV tiveram um aumento no diâmetro da pata a partir de 6 horas, atingindo seu máximo em sete dias após a infecção. Foi observado um aumento na produção de MIP1-Alfa, MCP-1 e IL6 nas patas infectadas e no número de células dos linfonodos inguinais, no 5º dia após a infecção [2]. O tratamento com GM (10mg/kg/animal) nos animais infectados reduziu de forma não significativa em aproximadamente 33%. Os resultados foram expressos como média ± EPM. * P<0,05 comparados com os grupos controles (não infectados ou infectados e não tratados). Nossos resultados sugerem que a injeção de CHIKV na pata de camundongos induz um edema acompanhado de produção de citocinas e aumento no número de células no linfonodo inguinal, no entanto a administração oral do GM reduziu o acúmulo de células linfáticas de forma não significativa. CEUA: LW-32/23. Apoio Financeiro: CNPq, FAPERJ, CAPES.

Palavras-chave: inflamação, artrite, Chikungunya vírus.

Referências

[1] Chen, W., *et al.* Specific inhibition of NLRP3 in chikungunya disease reveals a role for inflammasomes in alphavirus-induced inflammation. *Nature Microbiology*, v. 10, n. 2, p. 1435–1445, 2017.

[2] Correa, L. B., *et al.* Anti-inflammatory Effect of Methyl Gallate on Experimental Arthritis: Inhibition of Neutrophil Recruitment, Production of Inflammatory Mediators, and Activation of Macrophages. *Journal of Natural Products*, v. 6, n. 79, p. 1554–1566, 2016.

Percepção da Integridade em Pesquisa por profissionais que atuam em pesquisa na Fundação Oswaldo Cruz

Lanzarini, Cíntia^{1,2}; Esher, Ângela³; Souza, Mariana C.¹; Penido, Carmen^{1,4}.

1) Laboratório de Farmacologia Aplicada, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. cintia.gouy@inca.gov.br, angela.esher@fiocruz.br, mariana.souza@fiocruz.br, carmen.penido@fiocruz.br.

2) Núcleo de Ensaios Clínicos, Divisão de Pesquisa Clínica e Desenvolvimento Tecnológico, Coordenação de Pesquisa, Instituto Nacional de Câncer, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

3) Departamento de Política de Medicamentos e Assistência Farmacêutica, Escola Nacional de Saúde Pública, Fundação Oswaldo Cruz.

4) Centro de Desenvolvimento Tecnológico em Saúde, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Ética e integridade em pesquisa são cruciais para a condução de pesquisas robustas. Práticas questionáveis e má conduta em pesquisa podem ameaçar a Conduta Responsável em Pesquisa [1]. Compreender a cultura de integridade em pesquisa e incentivar ações para a sua promoção são importantes para a confiabilidade do conhecimento científico. No entanto, estudos sobre a compreensão da cultura de integridade em pesquisa, no contexto nacional, ainda são escassos. Dessa forma, o objetivo deste estudo é de avaliar a percepção dos profissionais atuantes em pesquisa na Fiocruz sobre Integridade em Pesquisa. Este é um estudo descritivo e transversal, com uso de um questionário virtual (REDCap[®]), baseado em questionários da literatura [2,3]. O conteúdo, clareza e duração do seu preenchimento foram revisados por três especialistas da área. Profissionais atuantes em pesquisa na Fiocruz, maiores de 18 anos e que concordam em participar do estudo são considerados elegíveis. Período de coleta de dados: julho-dezembro/2023. Os resultados apresentados são parciais (julho-agosto/2023). O estudo recebeu aprovação do CEP-IOC antes de seu início. No período de julho-agosto/2023, 231 (10,1%) voluntários elegíveis responderam ao questionário. A maior parte dos voluntários são servidores (84,4%) e profissionais com mais de 10 anos de atuação em pesquisa (87,0%). Independente de faixa etária, vínculo empregatício, gênero declarado, atuação em docência e tempo de experiência em pesquisa, a maior parte dos respondentes relata familiaridade com o tema “Integridade em Pesquisa” e conhecimento da definição de má conduta como “Fabricação, Falsificação e Plágio”. Entretanto, 42,1% dos servidores, 40,8% dos profissionais com mais de 10 anos de experiência em pesquisa e 39,1% dos docentes permanentes *Stricto sensu* relatam familiaridade parcial com o tema e cerca de 20% de cada um desses grupos declara conhecer parcialmente a definição de má conduta. Considerando que docentes e servidores com mais de 10 anos de atuação em pesquisa representam a maior parte dos respondentes, os resultados parciais desta pesquisa podem significar que este tema está bem inserido no ambiente de pesquisa da Fiocruz. No entanto, ações podem ser ainda necessárias para o fortalecimento da temática na instituição. Ao término do estudo, acreditamos que será possível identificar ações estratégicas para a promoção da Integridade em Pesquisa na instituição.

Palavras-chave: Conduta Responsável em Pesquisa. Integridade em Pesquisa. Má conduta em pesquisa. Ética em pesquisa.

Referências:

[1] All European Academies - ALLEA. The European Code of Conduct for Research Integrity. Berlim: mar. 2023 (edição revisada). Disponível em: <<https://allea.org/wp-content/uploads/2023/06/European-Code-of-Conduct-Revised-Edition-2023.pdf>>. Acesso em: 25 set.2023.

[2] Kalichman, M.; Friedman, P.J. A Pilot Study of Biomedical Trainees' Perceptions Concerning Research Ethics. *Academic Medicine*, v. 67, n. 1, 1992. DOI: 10.1097/00001888-199211000-00015. Disponível em: <<https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1418260/>>. Acesso em: 26 set. 2023.

[3] Eastwood, S. *et al.* Ethical Issues in Biomedical Research: Perceptions and Practices of Postdoctoral Research Fellows Responding to a Survey. *Science and Engineering Ethics*, v. 2, n. 1, 1996. Disponível em: <<https://link.springer.com/article/10.1007/BF02639320#citeas>>. Acesso em: 10 jul. 2023.

EIXO TEMÁTICO - QUÍMICA MEDICINAL

Investigação *in silico* do comportamento dinâmico da enzima cruzaina nas formas apo e complexada com inibidores da classe carbamoil-imidazol

Reis, Caroline Rodrigues Chaves¹; Fernandes, Tácio Vinício Amorim¹; Hoelz, Lucas Villas Bôas¹

1) Laboratório de Modelagem Molecular de Farmanguinhos, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. carolinercreis@gmail.com; taciovaf@gmail.com; lucashoelz@yahoo.com.br

A doença de Chagas é causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Apesar de endêmica na América Latina, há registros na Europa, Oceania, Ásia e Estados Unidos, provocando um enorme impacto no sistema de saúde global. Atualmente, existem apenas dois fármacos preconizados para o tratamento da doença de Chagas, o nifurtimox e o benznidazol. Apesar de serem eficientes na fase aguda da doença, apresentam eficácia insatisfatória na fase crônica, o que justifica a busca por um tratamento mais efetivo em todas as fases da enfermidade [1]. Dentre os potenciais alvos terapêuticos, a enzima cruzaina (CRZ) se destaca por ser essencial para todo o ciclo de vida do parasito. Além disso, inibidores CRZ têm apresentado atividade tripanocida com baixa toxicidade para mamíferos [2]. Dentre as classes de inibidores descritas, a carbamoil-imidazol foi selecionada para estudo, pois apresenta inibidores competitivos e não covalentes, que demonstram atividade tripanocida e perfil terapêutico promissor em ensaios de citotoxicidade e toxicidade *in vivo* [3]. Assim, o objetivo do projeto é investigar em escala atômica-molecular, por simulações de Dinâmica Molecular usando o programa *Gromacs 2022.2*, os fatores estruturais e dinâmicos que possam estar envolvidos no processo de inibição da CRZ, mediado por cinco inibidores da classe carbamoil-imidazol selecionados do trabalho de Souza e colaboradores [3]. Além disso, sugerir modificações estruturais que possam melhorar a potência e segurança dos inibidores. Para esse fim, será extraído do banco de dados de proteínas as estruturas 3D da CRZ na forma apo (código: 6N3S) e complexada com o inibidor benzimidazol (código: 3KKU). As estruturas 3D dos cinco inibidores avaliados serão construídas no programa *Spartan14*. As otimizações estruturais serão propostas com o auxílio do servidor *SwissBioisostere*, uma vez que possui uma biblioteca com mais de 5,5 milhões de diferentes tipos de transformações bioisostéricas disponíveis. As novas moléculas serão submetidas às simulações computacionais e aos mesmos métodos de análise. Por fim, será calculado o perfil de absorção, distribuição, metabolismo, excreção e toxicidade (ADMET) das novas estruturas e dos cinco inibidores selecionados nos servidores *SwissADME*, *pkCSM* e *ADMETlab2.0*, tendo em vista que candidatos promissores muitas vezes falham devido a propriedades ADMET insatisfatórias.

Palavras-chaves: *Trypanosoma cruzi*. Cruzaina. Docking molecular. Simulação de dinâmica molecular. ADMET *in silico*.

Referências:

- [1] PÉREZ-MOLINA, J. A.; MOLINA, I. Chagas disease, *The Lancet*, v. 391 p. 82–94, 2018.
- [2] LUCHI et al. Combining Charge Density Analysis with Machine Learning Tools To Investigate the Cruzain Inhibition Mechanism. *ACS Omega*, v. 4, p.19582-19594, 2019.
- [3] SOUZA et al. Discovery of Potent, Reversible, and Competitive Cruzain Inhibitors with Trypanocidal Activity: A Structure-Based Drug Design Approach. *J. Chem. Inf. Model.*, v. 60, p. 1028-1041, 2020.

Avaliação *in silico* de análogos do Ponatinibe como potenciais inibidores da enzima BCR-ABL1 contendo a mutação T315I

Parra, Lidia Corrêa¹; Pimentel, Luiz Cláudio²; Fernandes, Tácio Vinício Amorim¹; Hoelz, Lucas Villas Bôas¹

1) Laboratório de Modelagem Molecular de Farmanguinhos, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. liadiacparra@gmail.com; taciovaf@gmail.com; lucashoelz@yahoo.com.br

2) Laboratório de Síntese de Farmanguinhos, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. luiz.pimentel@fiocruz.br

O tratamento de pacientes com Leucemia Mielóide Crônica (LMC) ocorre principalmente através de inibidores de tirosina cinase (ITC) de 1^a e 2^a geração, como o Imatinibe e o Nilotinibe. Entretanto, estes inibidores têm demonstrado ineficácia frente à algumas mutações no domínio da cinase, como a mutação do resíduo *gatekeeper* T315I (BCR-ABL1^{T315I}) que induz resistência medicamentosa. Atualmente, o tratamento de pacientes com LMC contendo a mutação da BCR-ABL1^{T315I} tem sido realizado através de um ITC de 3^a geração chamado Ponatinibe [1]. No entanto, o tratamento com este fármaco é limitado devido ao alto custo e, principalmente, aos seus efeitos adversos. Neste contexto torna-se necessário a avaliação de novos análogos do Ponatinibe como potenciais inibidores da enzima BCR-ABL1 contendo a mutação T315I, para um tratamento mais eficaz e seguro dos pacientes. A metodologia utilizada consiste em avaliar 15 novos análogos planejados por pesquisadores do LASFAR, utilizando técnicas como *Docking* Molecular, *Consensus Docking* e *Consensus Ranking*, além da predição *in silico* de propriedades físico-químicas e farmacocinéticas (ADMET) [2,3]. O protocolo desenvolvido para utilização nos ensaios de *docking* dos análogos foi validado através da estratégia de *Redocking*, recuperando as principais interações descritas nos trabalhos experimentais que elucidaram as estruturas ABL1 selvagem e mutante T315I. Além disso os parâmetros utilizados se mostraram eficientes ao prever interações anteriormente não descritas nos trabalhos de referência [4,5]. Os resultados de *Consensus Docking* e da abordagem *Consensus Ranking* sugerem que os análogos da família Ureidofenila e aqueles que possuem um grupo CF₃ na posição 3 (meta) da sua estrutura apresentem maior afinidade pelas duas formas da ABL1. Além disso, a predição do perfil ADMET destas moléculas apresentam similaridade aos resultados obtidos para o PTB, entretanto, com alguns parâmetros mais favoráveis para a administração por via oral.

Palavras-chave: Ponatinibe, *Docking* Molecular, Avaliação *in silico*, BCR-ABL1, mutação T315I

Referências:

- [1] ROSSARI, F.; MINUTOLO, F.; ORCIUOLO, E. Past, present, and future of BCR-ABL inhibitors: from chemical development to clinical efficacy. *Journal of Hematology & Oncology*, v. 11, p. 84, 2018. DOI: 10.1186/s13045-018-0624-2
- [2] FELTES, B. C.; *et al.* Atracamento Molecular. In: VERLI, H. (Org.). *Bioinformática: da Biologia à Flexibilidade Molecular*. São Paulo: SBBq, 1 ed., cap. 9, p. 189-208, 2014.
- [3] FEHER, M. Consensus scoring for protein-ligand interactions. *Elsevier*, v. 11, p. 421-428, 2006. DOI: 10.1016/j.drudis.2006.03.009
- [4] O'HARE, T.; *et al.* AP24534, a pan-BCR-ABL inhibitor for chronic myeloid leukemia, potently inhibits the T315I mutant and overcomes mutation-based resistance. *Cancer cell*, n. 16, v. 5, p. 401-412, 2009. DOI: 10.1016/j.ccr.2009.09.028
- [5] ZHOU, T.; *et al.* Structural mechanism of the pan-BCR-ABL inhibitor ponatinib (AP24534): lessons for overcoming kinase inhibitor resistance. *Chemical Biology & Drug Design*, n. 77, v. 1, p. 1-11, 2011. DOI: 10.1111/j.1747-0285.2010.01054-x

Preparo e caracterização de polímeros de boro com muitas potencialidades em Química medicinal

Brito, Matheus Italo de Oliveira^{1*}; Gonçalves, Bianquini Rebeca¹; Semaan, Felipe Silva²; Costa, Marcos Antonio da Silva³; Rocha, Pamela Spamer Moulin⁴; Araújo, André Souza⁴; Martins, Daniela de Luna¹

1) Laboratório de Catálise e Síntese, Instituto de Química, UFF, Niterói, RJ, Brasil. matheus_brito@id.uff.br; dlmartins@id.uff.br

2) Laboratório Peter Sorensen de Química Analítica, Instituto de Química, UFF, Niterói, RJ, Brasil.

3) Laboratório de Química de Polímeros, Instituto de Química, UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

4) Laboratório de Espectroanalítica Aplicada, Instituto de Química, UFF, Niterói, RJ, Brasil.

O copolímero de estireno e anidrido maleico (SMA) tanto pode ser aplicado no seguimento industrial para diversas finalidades, como também apresenta aplicações biológicas, havendo já sido relatadas atividades virucidas e antitumorais para o SMA. [1] A versão hidrolisada do SMA, o poli(estireno-ácido maleico) (SMAC) possui atividade inibitória do HIV. Organoboros, por sua vez, têm despertado muita atenção na química medicinal já que podem mimetizar o estado de transição tetraédrico negativamente carregado resultante da ação de enzimas hidrolases sobre seus substratos. [2] Assim, neste trabalho, objetivou-se unir as potencialidades dos organoboros àquelas dos copolímeros do SMA. Para tal, sintetizaram-se e caracterizaram-se copolímeros SMA contendo grupos B(OH)₂, com vistas a aplicações na química medicinal. Nesse trabalho foram preparados o (SMA), o poli(estireno-ácido maleico) (SMAC), o poli(ácido 4-vinilfenilborônico-co-anidrido maleico) (VPBAMA) e o poli(ácido 4-vinilfenilborônico-co-ácido maleico) (VPBAMAC). Para obtenção dos copolímeros SMA e VPBAMA, o anidrido maleico e o comonômero adequado foram copolimerizados de forma radicalar, sob aquecimento e com peróxido de benzoíla como iniciador. Em seguida, esses polímeros foram hidrolisados em meio básico para transformar a unidade anidrido em carboxilato, a qual foi protonada ao ácido carboxílico empregando ácido clorídrico aquoso. Foi feita a caracterização dos produtos por IV, ¹H-RMN. A presença do anidrido pôde ser evidenciada pelas bandas de estiramento assimétrico e simétrico de C=O características da função anidrido: 1849,64 e 1774,95 cm⁻¹. Estas bandas, por sua vez, foram substituídas pela banda νC=O do ácido carboxílico: 1713 cm⁻¹. Os sinais alargados de RMN mostram que se trata de macromoléculas. Os espectros apresentam sinais de carbonos sp³, mostrando que os monômeros foram transformados no polímero. Nas análises termogravimétricas dos polímeros, observou-se concordância com a literatura para os fenômenos de degradações térmicas. O percentual de boro foi determinado por espectrometria de emissão atômica com plasma induzido por micro-ondas (MP-AES): VBPAMA (32,26 ± 1,00 mg. g⁻¹) e VBPAMAC (19,31 ± 0,31 mg.g⁻¹). Dessa forma, pode-se afirmar que os polímeros foram obtidos por esta rota sintética e serão, futuramente, avaliados do ponto de vista biológico. Agradecimentos: FAPERJ (E-26/010.001861/2019), PROPPI-UFF (FOPESQ-2022), CNPq, Capes, PPGQ-UFF.

Palavras-chave: organoboros, inibidores enzimáticos, estireno, anidrido maleico, ácidos borônicos.

Referências:

[1] Popescu, I. *et al.* Biomedical applications of maleic anhydride copolymers. *Rev. Roum. Chim.*, v. 56, p. 173, 2011.

[2] Hiller, N. J. *et al.* Arylboronic Acids and their Myriad of Applications Beyond Organic Synthesis. *Eur. J. Org. Chem.* v. 2020, n. 2020, p. 4841-4877.

Avaliação da atividade anti-inflamatória de naftoquinonas por inibição do receptor P2X7

Silva, Nayane Abreu do Amaral¹; Faria, Robson Xavier^{2,3}; Faria, Juliana Vieira^{2,3}; Bello, Murilo Lamim⁴; Martins, Daniela de Luna¹

1) Laboratório de Catálise e Síntese (LabCSI), Instituto de Química, UFF, Campus do Valonguinho, Niterói, RJ, Brasil /www.danielamartinsgroup.com.br

2) Fiocruz, Laboratório de Avaliação e Promoção de Saúde Ambiental, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

3) Programa de Pós-Graduação em Ciência e Biotecnologia, Instituto de Biologia, UFF, Campus do Valonguinho, Niterói, RJ, Brasil

4) Laboratório de Planejamento Farmacêutico e Simulação Computacional, Faculdade de Farmácia, UFRJ, RJ, Brasil. e-mail: nayaneabreu@id.uff.br/dlmartins@id.uff.br

A resposta inflamatória surge diante da exposição do organismo a estímulos danosos, e, geralmente, cessa após o combate a tais estímulos. Nos processos inflamatórios prolongados ou exacerbados há necessidade de intervenção com terapias anti-inflamatórias. O receptor P2X7 é um canal iônico ativado por ATP (trifosfato de adenosina) e sua ativação resulta na liberação da interleucina inflamatória IL-1 β . Sua inibição é apontada como uma abordagem viável para tratamento de doenças inflamatórias.[1] As naftoquinonas possuem anel benzênico condensado com um anel de seis membros com duas carbonilas e duas C=C. Nosso grupo de pesquisa relatou que 1,4-naftoquinonas são arcabouços estruturais interessantes para o desenvolvimento de inibidores do P2X7. [1,2] No presente trabalho, avaliou-se inibição do receptor P2X7 por 2-hidroxi e 2-amino-1,4-naftoquinonas. As naftoquinonas foram obtidas em 23-78% de rendimento, após coluna, por reações de Suzuki sob micro-ondas, a partir de naftoquinonas iodadas e ácidos arilborônicos, sob catálise de Pd(OAc)₂ e em meio aquoso básico. Os produtos foram caracterizados por IV, ¹H e ¹³C-RMN e espectrometria de massas. Os compostos AN-03 e AN-04 (hidroxinaftoquinonas) apresentaram IC₅₀ 71,2 μ M e 22,4 μ M, respectivamente, para P2X7R humano. O composto AD-4F (aminonaftoquinona) inibiu *h*P2X7R mostrando-se mais potente que o inibidor conhecido BBG na inibição da liberação de IL-1 β induzida por ATP, com atividade *h*P2X7R IC₅₀ 0,460 μ M. A substituição do grupo hidroxila da série 2-hidroxi-1,4-naftoquinonas pelo grupo amino não resultou em melhora na atividade inibitória da função P2X7 *in vitro*. No entanto, o composto AD-4F apresentou melhor desempenho *in vivo*, resultando na melhora da reversão do edema de pata causado pelo ATP (11,51 ng/kg) e carragenina (113 ng/kg). Estudos de *docking* molecular indicaram que AN-04 e AD-4F se ligam em um sítio alostérico do receptor P2X7. As naftoquinonas foram obtidas em 23-78% de rendimento, apresentaram baixa toxicidade e boa atividade inibitória do receptor *h*R2X7R. Como perspectiva futura, pretende-se avaliar mais profundamente o mecanismo de inibição. Agradecimentos: FAPERJ (E-26/010.001861/2019), PROPPI-UFF (FOPESQ-2022), PPGQ-UFF.

Palavras-chave: receptor P2X7; inflamação; 1,4-naftoquinonas; Suzuki

Referências:

[1] Faria, R.X. *et al.* 1,4-Naphthoquinones potently inhibiting P2X7 receptor activity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 143, p. 1361-1372, 2018.

[2] Martins, D. L. *et al.* P2X7 receptor inhibition by 2-amino-3-aryl-1,4-naphthoquinones. *Bioorganic Chemistry*, v. 104, p. 104278-104289, 2020.

Química medicinal de organometálicos de boro obtidos da reação de aldeídos aromáticos com diferentes nucleófilos

Pimentel, Patrick Pedro¹; e Silva, Nayane Abreu do Amaral¹; Hiller, Noemi de Jesus¹; Semaan, Felipe Silva²; Faria, Robson Xavier²; de Lima, Evanoel Crizanto³; Martins, Daniela de Luna¹

1) Laboratório de Catálise e Síntese (LabCSI), Instituto de Química, UFF, Campus do Valonguinho, Niterói, RJ, Brasil. patrickpimentel@id.uff.br; dlmartins@id.uff.br

2) Laboratório Peter Sørensen, Instituto de Química, UFF, Campus do Valonguinho, Niterói, RJ, Brasil. labpetersorensen@gmail.com

3) Fiocruz, Laboratório de Avaliação e Promoção de Saúde Ambiental, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

4) Laboratório de Catálise e Síntese de Substâncias Bioativas (LACASB), CM UFRJ-Macaé, RJ, Brasil.

Os organoboros são compostos sintéticos cuja química medicinal tem despertado muito interesse após a introdução de organoboros no mercado farmacêutico. No presente trabalho, teve-se como objetivo preparar organoboros utilizando-se aldeídos e cetonas aromáticos contendo unidades B(OH)₂ como reagentes de partida. Os adutos de Knoevenagel (série NO) foram preparados por reação de aldeídos aromáticos com nucleófilos de carbono (malononitrila e cianoacetato de etila) em água sob aquecimento (NO-01, 03, 12 e 13: respectivamente em 86, 91, 87 e 84%). Oximas (série L) foram preparadas por reação entre os carbonilados borilados comerciais e cloridrato de hidroxilamina em água/etanol em rendimentos de 52-69%, após recristalizações. Tiossemicarbazonas foram preparadas em 45-92% de rendimento, após recristalização, por reação entre os carbonilados e a tiossemicarbazida em água/etanol. Todos os produtos foram caracterizados por IV, ¹H e ¹³C-RMN. Os produtos da série NO apresentaram atividade anti-inflamatória, inibindo a liberação de citocinas IL-1β devido à inibição do receptor purinérgico P2X7 humano. A melhor inibição (IC₅₀ = 0,031 ± 0,002 μM) foi de NO-01 que também apresentou melhor atividade em modelo *in vivo* de edema de pata de rato do que o diclofenaco. [1] As oximas L1-L6 foram avaliadas frente à acetil e à butirilcolinesterase humanas, mostrando-se seletivas para inibição de butirilcolinesterase (L3, IC₅₀ = 6,41 ± 0,62 μM). [2] As tiossemicarbazonas Ti3NV e Ti4NV, respectivamente 0,05 e 0,025 μg/mL de MIC (Mínima concentração inibitória) frente à cepa suscetível do *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv, 12,5 μg/mL frente à cepa resistente à rifampicina (ATCC 35838) e 1,56 μg/mL para a cepa resistente à isoniazida (ATCC 35822). Em conclusão, os organoboros foram obtidos com rendimentos de moderados a muito bons por reações entre aldeídos e cetonas contendo B(OH)₂ e nucleófilos e apresentaram atividades anti-inflamatória, anticolinesterásica e bactericida. Agradecimentos: FAPERJ (E-26/010.001861/2019), PROPPI-UFF (FOPESQ-2022), PPGQ-UFF.

Palavras-chave: cinamatos, nitrilas, Knoevenagel, organoboro, butirilcolinesterase, *M. tuberculosis*

Referências:

[1] Santos, E. M. *et al.* Arylboronic acids as safe and specific human butyrylcholinesterase inhibitors. *J. Mol. Struct.* v. 2023, n. 1290, p.135932-135955, 2023.

[2] Hiller, N. J. *et al.* Arylboronic Acids and their Myriad of Applications Beyond Organic Synthesis. *Eur. J. Org. Chem.* v. 2020, n. 31, p. 4841-4877, 2020.

Uso de Redes Moleculares na Investigação de Metabólitos de *Piper aduncum* L.

Luna, Adélia Viviane¹; Fagundes, Thayssa da S. F.⁴; Araújo, Marlon Heggdorne⁵; Muzitano, Michelle F.⁵; Queiroz, George A.⁴; Guimarães, Elsie F.⁴; Ramos, Ygor Jessé⁶; Marques, André M.¹; Moreira, Davyson de Lima^{2,3,4}

1) Departamento de Produtos Naturais, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. lunaviviane31@gmail.com

2) Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Instituto de Biologia, Pós-graduação em Biologia Vegetal, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. davysonmoreira@hotmail.com

3) Laboratório de Toxicologia Ambiental, ENSP, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

4) Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Jardim Botânico, Rio de Janeiro, RJ,

5) Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, RJ,

6) Laboratório Farmácia da Terra, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, Bahia.

A família Piperaceae compreende cerca de 4.300 espécies com distribuição pantropical. A espécie *Piper aduncum* L., conhecida popularmente como Jaborandi, tem uso medicinal consagrado e ocorre em biomas como Cerrado, Floresta Amazônica e Mata Atlântica [1]. Em uma avaliação preliminar conduzida por nosso grupo de pesquisa, os componentes fixos dessa espécie, coletada no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, demonstraram relevante atividade contra *Mycobacterium tuberculosis*. Análises dos constituintes fixos do extrato etanólico foliar e suas partições por Cromatografia em Fase Líquida de Alta Eficiência (CLAE-DAD-UV) sugerem a presença de flavonoides como componentes majoritários. Este trabalho objetivou caracterizar quimicamente as frações de *P. aduncum* L. usando redes moleculares no GNPS [2] e avaliar sua atividade biológica contra *M. tuberculosis*. As Folhas de *P. aduncum* cultivada foram coletadas no Jardim Botânico do Rio de Janeiro e depositadas no Herbário RB (RB1426180). As amostras foram secas em estufa com circulação de ar a 40°C e, posteriormente, submetidas à extração por maceração estática até esgotamento. A partição butanólica foi selecionada para fracionamento em Sephadex[®] LH-20. Essa partição e suas frações foram analisadas por CLAE-EM/EM. Os espectros de massas foram obtidos por *electrospray* em modo positivo. Os dados obtidos foram submetidos a Plataforma GNPS para cálculo de redes moleculares no modo clássico. A atividade antimicobacteriana da partição butanólica foi avaliada na cepa virulenta *M. tuberculosis* H₃₇Rv. A análise por CLAE-EM/EM das frações butanólicas permitiu a construção de uma rede molecular no GNPS. A comparação com a biblioteca de espectros da plataforma GNPS indicou a presença de 2 flavonoides glicosilados e o estudo da rede permitiu ainda propagar a anotação de mais 7 flavonoides. A atividade antimicobacteriana da fração butanólica apresentou valores de Concentração Inibitória Mínima (CIM) igual a 128 µg/mL. Valores de CIM entre 100 - 200 µg/mL classificam o extrato, fração ou substância isolada como candidatos moderados contra *M. tuberculosis* [3]. Esta é a primeira descrição do perfil químico da partição butanólica e de suas frações purificadas em Sephadex de *P. aduncum* cultivada, bem como de sua atividade antimicobacteriana.

Palavras-chave: Piper, Atividade antimicobacteriana, Flavonoides, Redes Moleculares.

Referências:

[1] FLORA DO BRASIL 2020. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br>

[2] WANG, M.; CARVER, J. J.; PHELAN, V. V.; *et al.* Sharing and community curation of mass spectrometry data with Global Natural Products Social Molecular Networking. *Nature biotechnology*, v. 34, n. 8, p. 828-837, 2016.

[3] BERNUCI K. Z.; IWANAGA C. C.; FERNANDEZ, C. M. M. A.; *et al.* Evaluation of chemical composition and antileishmanial and antituberculosis activities of essential oils of *Piper* species. *Molecules*, v. 21, n. 12, p. 1698, 2016.

Óleo essencial de *Lavandula angustifolia* Mill.: Sazonalidade e avaliação frente aos vírus DENV-2 e ZIKV.

Maria, Ana Clara Brito¹; Brambila, Raphael Rodrigues²; Mpalantinos, Maria Athana¹; Silva, Jefferson Rocha de Andrade³; Costa, Luciana Jesus da²; Amaral, Ana Cláudia Fernandes¹

1) Laboratório de Plantas Medicinais e Derivados, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Farmanguinhos, FIOCRUZ, RJ, Brasil. anaclarabm@gmail.com, aamaral_99@yahoo.com.br

2) Laboratório de Genética e Imunologia das Infecções Virais, Instituto de Microbiologia, UFRJ, RJ, Brasil.

3) Laboratório de Cromatografia, Departamento de Química, UFAM, AM, Brasil.

Lavandula angustifolia Mill, conhecida popularmente como lavanda, é uma espécie nativa da Europa e utilizada tradicionalmente para diferentes finalidades [1]. No âmbito científico é comum as substâncias linalol e acetato de linalila serem citados como majoritárias no óleo essencial (OE) [2]. Entre as atividades biológicas associadas a espécie, pode-se destacar a atividade antiviral do OE [3]. Nesse contexto, a importância de avaliação frente às arboviroses faz-se necessária devido ao notável aumento do número de casos [4]. Com relação a espécie, alguns estudos falham ao não considerar a composição química do OE, que pode mudar de acordo com fatores bióticos e abióticos [5]. Dito isso, os objetivos do presente trabalho foram caracterizar o OE das partes aéreas de *L. angustifolia* coletadas em diferentes épocas do ano, bem como avaliar a sua atividade antiviral contra DENV-2 e ZIKV. Para verificar a variabilidade química, as coletas foram realizadas de acordo com o ciclo de cultivo da planta nos meses de julho, outubro, janeiro e março de 2022 e 2023. Os OEs foram obtidos por hidrodestilação em aparato do tipo Clevenger por 2 horas, armazenados em frascos âmbar e mantidos no freezer. O perfil cromatográfico foi realizado em Cromatógrafo Gasoso acoplado ao Espectrômetro de Massas (CG-EM). Para o ensaio biológico, células VERO-E6 foram submetidas à infecção por DENV-2 e ZIKV^{PE}. As amostras foram testadas a 100µg/mL e após 72 horas os sobrenadantes foram coletados e titulados para determinação de Unidades Formadoras de Placa. As análises químicas dos OEs mostraram como constituintes majoritários os monoterpenos 1,8-cineol, cânfora e fenchona em todos os meses, com diferenças apenas nas proporções dessas substâncias. A temperatura do local de coleta influenciou diretamente no rendimento dos OEs. Em relação ao ensaio biológico, houve aumento significativo do título viral do OE em comparação ao controle, ao invés da atividade antiviral esperada. Dessa forma, conclui-se que os principais constituintes encontrados nos OEs de *L. angustifolia* são monoterpenos e a composição diferencia da normalmente encontrada na literatura para essa espécie botânica cultivada na Europa. Sendo assim, há variação em relação ao local e ao mês de coleta, em que essa última se torna menos expressiva que a primeira, evidenciando a importância desse tipo de estudo. Outros estudos são necessários para verificar o possível mecanismo de ação dos óleos essenciais na replicação viral. Agradecimentos: PROEP/CNPq 440011/2022-1, MCTI CNPq 406238/2022-7, FAPEAM Edital nº 006/2019.

Palavras-chave: Lavanda; Óleo essencial; Arboviroses; Zika; Dengue.

Referências:

[1] SOUZA, ERL; CRUZ, JHA; GOMES, NML *et al.* *Lavandula angustifolia* Miller e sua utilização na Odontologia: uma breve revisão. Archives of Health Investigation, v. 7, n. 12, 2019.

[2] SMIGIELSKI, K; PRUSINOWSKA, R; STOBIECKA, A *et al.* Biological properties and chemical composition of essential oils from flowers and aerial parts of lavender (*Lavandula angustifolia*). Journal of Essential Oil Bearing Plants, v. 21, n. 1, p. 1-12, 2018.

[3] BAKER, DHA; AMAROWICZ, R; KANDEIL, A *et al.* Antiviral activity of *Lavandula angustifolia* L. and *Salvia officinalis* L. essential oils against avian influenza H5N1 virus. Journal of Agriculture and Food Research, v. 4, p. 1-7, 2021.

[4] BRASIL. Painel de Monitoramento das arboviroses. Ministério da Saúde. 2023. Disponível em: <<https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/a/aedes-aegypti/monitoramento-das-arboviroses>>. Acesso em 07 set. 2023.

[5] MAMBRÍ, APS. *Lavandula dentata* L. sob o efeito da radiação solar em diferentes épocas de colheita. 2016. 77 f. Dissertação, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria, 2016.

Biotransformação de monoterpenos por *Saccharomyces cerevisiae* para a produção de 2-feniletanol

Ferrage, Bheatriz Santos^{1,2}, Lopes, Wagner², Pacheco, Graziela Jardim², Ramos, Aline de Souza²

1) UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, bhea98.santos@gmail.com

2) Farmanguinhos, Fiocruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, aline.ramos@fiocruz.br

A biotransformação consiste na obtenção de substâncias que podem ter alto valor agregado a partir de um precursor apropriado e com o uso de biocatalisadores, que podem ser microrganismos [1]. A levedura de panificação *Saccharomyces cerevisiae* é considerada um bom catalisador, pois não é patogênica, possui elevada regiosseletividade em duplas ligações [2] e está disponível comercialmente. Dentre os substratos que podem ser utilizados, destacam-se os monoterpenos α -pineno, β -pineno e γ -terpineno, que são abundantes em óleos essenciais de cítricos e coníferas [3]. Neste trabalho, foi realizada a biotransformação dos monoterpenos α -pineno, β -pineno e γ -terpineno, utilizando *S. cerevisiae* como biocatalisador para a produção de bioaromas. Inicialmente, uma suspensão de leveduras foi preparada a partir de 30 g de fermento biológico comercial (Fleischmann[®]) e 90 mL de água destilada. Em triplicata para cada substrato, 13 mL da suspensão de leveduras foram adicionados a frascos Erlenmeyer com 250 mL de capacidade contendo 50 mL de glicose 5% e 60 μ L de substrato. Após incubação sob agitação orbital a 140 rpm e 30°C durante 48 h, a biomassa foi separada por centrifugação a 4000 rpm por 10 min. O sobrenadante foi extraído com diclorometano (3x 20 mL) e diretamente analisados por cromatografia gasosa acoplada a espectrômetro de massas. A identificação das substâncias foi realizada por comparação dos espectros de massas com a biblioteca Wiley NBS. Nas condições testadas, os três substratos sofreram conversão de quase 100% em diferentes bioprodutos, porém em todos houve produção majoritária do 2-feniletanol (aroma de rosas). Os substratos α -pineno e γ -terpineno foram considerados os mais promissores, sendo o percentual de 2-feniletanol em torno de 80% nas duas situações. Com o substrato β -pineno, o 2-feniletanol também foi o produto majoritário, mas o percentual na mistura era de apenas 38%. Há relatos da produção desta substância por *S. cerevisiae*, onde é atribuído ao efeito da L-fenilalanina como precursor pelas rotas bioquímicas desse microrganismo [4]. Portanto, as biotransformações de monoterpenos por *S. cerevisiae* para gerar 2-feniletanol, baseada nos resultados aqui apresentados foi satisfatória e considerada promissora com dois dos três substratos testados. Entretanto, ainda é necessário estudar métodos de separação e purificação deste produto otimizar a produção. Agradecimentos: PIBIC-CNPq, Serviço de Bioprocessos (Farmanguinhos) e Serviço de Métodos Analíticos (Farmanguinhos).

Palavras-chave: Bioconversão. Monoterpenos. 2-Fenil etanol. Levedura, Sacharomycetaceae.

Referências:

- [1] CARVALHO, C.C.C.R.; FONSECA, M.M.R. Biotransformation of terpenes. *Biotechnology Advances*, v.24 n.2, p. 134-142, 2005.
- [2] UZIR, M. H.; KHOR, G. K. *Saccharomyces cerevisiae*: a potential stereospecific reduction tool for biotransformation of mono- and sesquiterpenoids. *Yeast*, v.28, n.2, p. 93-107, 2010.
- [3] VESPERMANN, K. A. C. et al. Biotransformation of α - and β -pinene into flavor compounds. *Applied Microbiology Biotechnology*, v. 101, p. 1805-1817, 2017.
- [4] QIAN, X. et al. Current status and perspectives of 2- phenylethanol production through biological processes. *Critical Reviews in Biotechnology*, v. 39, p. 235-248, 2019.

Isolamento cromatográfico de dois ésteres de forbol do látex de *Euphorbia umbellata* (janaúba) ativos na reversão da latência do HIV

Neves, Gabrielle Pereira^{1,2}; Tostes, João Batista Freitas²; Nakamura, Marcos Jun²; Mourão, Pedro Junior⁴; Mazzei, José Luiz²; Tanuri, Amílcar⁴; Rocha, Helvécio Vinícius Antunes^{1,3}; Siani, Antonio Carlos^{1,2}.

1) Programa de Pós-Graduação Acadêmico em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. gabrielle.neves@far.fiocruz.br

2) Laboratório de Tecnologia para Biodiversidade em Saúde, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. antonio.siani@fiocruz.br

3) Laboratório de Micro e Nanotecnologia, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. helvecio.rocha@fiocruz.br

4) Laboratório de Virologia Molecular, Instituto de Biologia, Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Os ésteres de forbol são diterpenos do tipo tigliano encontrados em espécies de Euphorbiaceae [1]. Dentre os estudos desses compostos, destaca-se a capacidade de atuarem como agente reversor de latência (ARL) do HIV em células infectadas [2,3]. Tendo em vista esse potencial antiviral, o presente estudo visou o isolamento de dois diterpenos tiglianos (ésteres de forbol) do látex de *E. umbellata*, por técnicas cromatográficas combinadas, bem como a avaliação *in vitro* de ambos como ARL. Após a coleta (SisGen A3EA521), o látex foi congelado, liofilizado e pulverizado em almofariz, resultando em um pó branco fino e homogêneo, codificado como LLJ. Parte deste (120 mg) foi submetida à Extração em Fase Sólida (EFS) em RP-18 (Supelco, 1000 mg/6 ml) e eluída com CH₃CN e, em seguida, com CHCl₃ para resultar em frações concentradas em di- e triterpenos, respectivamente. A EFS foi otimizada quanto à resolução e aumento de carga, e o processo foi escalonado por Cromatografia Líquida de Média Pressão (CLMP), com transposição das condições: 1 g de material aplicado em coluna contendo sílica RP-18 (40-63 µm, 23 x 2,6 cm; gradiente CH₃CN→CHCl₃) gerando 14 frações de 30 ml, cujas composições foram comparadas por CCF (RP-18, CH₃CN, anisaldeído sulfúrico). As frações, reunidas por similaridade de perfil em CCF, foram analisadas por CLAE-DAD (Purospher Star RP-18 250 x 4,6 mm, 5 µm, gradiente CH₃CN-H₂O). A fração rica em diterpenos (170 mg) foi submetida ao fracionamento em coluna de sílica gel 60 (63-200 µm, 30 x 3,0 cm, eluente CHCl₃) por gravidade, coletando-se 70 frações de 12,5 ml. Após avaliação por CCF (gel de sílica, CHCl₃-éter etílico 95:5) e CLAE-DAD, as frações de interesse foram submetidas à CLAE semi-preparativa (Inertsil ODS-4 RP18, 250 x 6,0 mm, 5 µm. CH₃CN-H₂O 57:43), a qual resultou no isolamento dos 3,4,12,13-tetraacetil-20-fenilacetilforbol e 3,4,12-triacetil,13-fenilacetil-20-desoxiforbol, cujas estruturas foram determinadas por EM-AR e ¹H e ¹³C-RMN. Esses dois ésteres de forbol mostraram ser os mais abundantes entre os constituintes diterpênicos, apresentando atividade como ARL-HIV *in vitro*, respectivamente, de 75-80% e 34-40% em relação ao ingenol B (controle positivo), no ensaio com células J-Lat 10.6 infectadas [3] entre 4-20 µg/ml. Agradecimentos: À Plataforma de Métodos Analíticos de Farmanguinhos/FIOCRUZ. Financiamento: PROEP CNPq/Farmanguinhos/Proc. 407841/2017-2 e INOVA-Projetos Especiais VPPIS-001-FIO-18-82.

Palavras-Chave: *Euphorbia umbellata*, Euphorbiaceae, Diterpenos, Isolamento, Cromatografia, HIV.

Referências:

[1] Evans F. J.; Taylor, S. E. Pro-inflammatory, tumour-promoting and anti-tumour diterpenes of the plant families Euphorbiaceae and Thymelaeaceae. *Fortschr Chem Org Naturst*, v. 44, p.1-99, 1983.

[2] De la Torre-Tarazona, H. E.; et al. 4-Deoxyphorbol inhibits HIV-1 infection in synergism with antiretroviral drugs and reactivates viral reservoirs through PKC/MEK activation synergizing with vorinostat. *Biochem Pharmacol*, v. 177, p. 113937, 2020.

[3] Tostes J. B.; et al. Phorbol esters from the latex of *Euphorbia umbellata*: bioguided isolation of highly potent HIV-1 latency interrupters in virus reservoir cells. *J Nat Prod*, v. 84, p. 1666-1670, 2021.

Impacto da irradiação UV-C no perfil metabólico do óleo essencial de *Piper aduncum* L. cultivado no Sudeste do Brasil

Assunção, Jeferson Adriano e Silva^{1,2}; Marcelino, Diego da Silva¹; Felisberto, Jéssica Regina Sales¹; Guimarães, Elsie Fraklin¹; Queiroz, George de Azevedo¹; Ramos, Ygor Jessé³; Moreira, Davyson de Lima^{1,2}

1) Laboratório de Produtos Naturais e Bioquímica, Diretoria de Pesquisas, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Jardim Botânico, Rio de Janeiro, Brasil. davysonmoreira@hotmail.com

2) Pós-Graduação em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos, Instituto de Tecnologia em Fármacos, Fundação Oswaldo Cruz, Manguinhos, Rio de Janeiro, Brasil. jefersonadriano.sa@gmail.com

3) Laboratório Farmácia da Terra, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Ondina, Salvador, Bahia, Brasil.

Piper aduncum L. é uma planta nativa do Brasil e pertence à família Piperaceae, responsável por propriedades bioativas documentadas em estudos etnobotânicos e etnofarmacológicos [1]. Destaca-se como repelente de pragas, inseticida, antinociceptiva, distúrbios renais e gastrointestinais. É cultivada devido ao interesse comercial, principalmente para a produção de óleos essenciais (OEs) [2]. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da radiação Ultravioleta do tipo C (UV-C) no perfil metabólico dos OEs na pós-colheita de folhas frescas de *P. aduncum*. As folhas foram expostas à radiação UV-C em uma câmara por 60, 120, 240 e 360 min. Uma amostra não irradiada foi incluída como controle e ficou exposta a luz do ambiente do laboratório por 120 min. Em seguida, os OEs foram extraídos por hidrodestilação em um aparelho do tipo Clevenger modificado por 2 h. A identificação dos constituintes foi realizada por CG-EM e quantificadas por CG-DIC. Os resultados demonstraram alterações na porcentagem relativa de constituintes químicos específicos, notadamente o arilpropanoide dilapiol, que teve um aumento variando de 26,81% (não irradiado) para 95,60% (360 min de irradiação). Esse processo não requer reagentes adicionais e pode ser aplicado imediatamente após a colheita, reduzindo também a carga microbiológica da matéria-prima [3,4]. A exposição à radiação UV-C em folhas frescas de *P. aduncum* apresenta-se como uma técnica promissora para aumentar o teor de dilapiol nos OEs, com potenciais aplicações comerciais e na indústria em larga escala.

Palavras-chave: Plantas medicinais, Piperaceae, Pós-colheita, Fotoestabilidade, Dilapiol.

Referências

[1] MORAIS, V. P. *et al.* Brief Review on *Piper aduncum* L., its Bioactive Metabolites and its Potential to Develop Bioproducts. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, v. 66, 2023.

[2] DUROFIL, A. *et al.* *Piper aduncum* essential oil: a promising insecticide, acaricide and antiparasitic. *A review. Parasite*, v. 28, 2021.

[3] CHEN, M. *et al.* Combined Transcriptome and Metabolome Analysis of *Musa nana* Laur. Peel Treated With UV-C Reveals the Involvement of Key Metabolic Pathways. *Frontiers in Genetics*, v. 12, p. 792991, 2022.

[4] FERHI, S. *et al.* Pilot-scale direct UV-C photodegradation of pesticides in groundwater and recycled wastewater for agricultural use. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, v. 9, n. 5, p. 106120, 2021.

Avaliação antileishmania e química do extrato metanólico das folhas de *Alpinia zerumbet* (Pers.) B. L. Burtt & R. M. Smith

Cruz, Jefferson¹, Silva, Maria Athana¹, Ferreira, José Luiz², Silva, Jefferson³, Garcia, Andreza⁴, Rodrigues, Igor⁴, Amaral, Ana Claudia¹.

1) Laboratório de Plantas Mediciniais e Derivados-PN1, ITF-Farmanguinhos, FIOCRUZ, RJ, Brasil, jefferson_dacruz@hotmail.com, aamaral_99@yahoo.com.br;

2) Faculdade de Farmácia, UFF, RJ, Brasil;

3) Laboratório de Cromatografia, DQ, UFAM, AM, Brasil;

4) Faculdade de Farmácia, UFRJ, RJ, Brasil.

As folhas de *Alpinia zerumbet* são utilizadas na medicina tradicional como chá medicinal para tratar hipertensão e distúrbios gástricos [1]. A espécie também é conhecida por ser rica em fenólicos e lactonas sesquiterpênicas. Alguns dos derivados das kavalactonas e flavanonas apresentam atividade antileishmania [2-3-4]. Este estudo tem o objetivo de avaliar a atividade contra parasitos de *L. amazonensis* utilizando o extrato metanólico das folhas de *A. zerumbet*. Como metodologia após a extração com água das folhas de *A. zerumbet*, o resíduo vegetal foi submetido a maceração com metanol. O extrato em metanol foi evaporado e submetido a análise instrumental por CLAE-EMAR em modo positivo e negativo utilizando uma coluna de C-18 e gradiente com fase móvel de água ácida com acetonitrila. A atividade antileishmania foi realizada em triplicata com formas promastigotas (5×10^7 /mL), incubadas em meio de cultura GRACE em placas de 96 poços. Após 48h a viabilidade dos parasitos foi determinada utilizando resazurina (100 μ M) e a leitura foi feita por fluorescência com excitação em 555nm e emissão em 585nm. Como resultado da análise dos espectros do cromatograma obtidos por CLAE-EMAR do extrato metanólico e dados da literatura [2] conduziu a identificação de ácido quínico, (+) catequina, (-) epicatequina, quercetin-3-O-rutinosídeo (rutin), quercetina-3-O-Glicosídeo (isoquercetina), isorhamnetina-3-O-glicosídeo, kaempferol-3-O-glicosídeo, kaempferol-3-O-glucuronídeo, pinostrobin, dihidro-5,6- dehidrokavaina e 5,6-dehidrokavaina. O ensaio antileishmania in vitro do extrato bruto apresentou atividade antileishmania com CI₅₀ de 118,34 μ g/mL. Os flavonoides identificados no extrato possuem atividade antioxidante, anti-inflamatória e anticâncer descritas na literatura e podem estar associados a longevidade descrita para *A. zerumbet* [5]. Concernente a atividade in vitro, as substâncias antileishmania, kavaina e apigenina, podem estar parcialmente associadas ao resultado obtido para o extrato bruto [3-4]. Os resultados deste estudo sugerem que o extrato metanólico das folhas de *Alpinia zerumbet* apresenta atividade antileishmania. No entanto, são necessários estudos adicionais para confirmar a atividade antileishmania do extrato e para identificar os compostos responsáveis por essa atividade.

Palavras-Chave: *Alpinia zerumbet*, Cromatografia líquida, *Leishmania*.

Referências:

[1] Teschke, R; Xuan, T. D. Nutrients, v. 10, n. 2, p. 166, 2018.

[2] Mpalantinos, M. A.; Soares, R.M; Parente, J. P; Kuster, R. M. (1998). Phytotherapy Research, v.12, n. 6, p. 442-444, 1998.

[3] Wilson, C.G & Jairo, S.V, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, v. 10(5), n.5, p.671-680, 2011.

[4] Zheoat et al. Pathogens, v.175, n.10, 2021.

[5] Cruz, J. D et al, Food Research International, v.173(2), p. 113417, 2023.

Avaliação do potencial antimicrobiano do látex de *Croton lechleri* Mull. Arg. contra espécies de *Sporothrix*.

Barcellos, Jéssica ¹; Almeida, Marcos ²; Silva, Maria Athana ¹; Bernardes-Engemann, Andrea ²; Silva, Fernando ²; Silva, Jefferson ³; Paes, Rodrigo ²; Amaral, Ana Claudia ¹

1) Laboratório de Plantas Medicinais e Derivados, PN1, ITF – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. thiesen.jessica@gmail.com, ana.amaral@fiocruz.br.

2) Laboratório de Micologia, INI, Fundação Oswaldo Cruz, RJ, Brasil. rodrigo.paes@ini.fiocruz.br

3) Departamento de Química, ICE, Universidade Federal do Amazonas, AM, Brasil.

A resistência crescente a medicamentos no tratamento de doenças fúngicas representa um sério problema de saúde pública, especialmente para esporotricose, doença causada por fungos do gênero *Sporothrix*. Embora seja curável, há dificuldades em seu tratamento, como a baixa disponibilidade de medicamentos, efeitos adversos, dificuldades de diagnóstico e falta de notificação compulsória [1]. Dessa forma, torna-se necessário buscar alternativas terapêuticas para essa doença, e as espécies vegetais são uma fonte promissora de novas moléculas com essa finalidade. Um exemplo é o látex da espécie *Croton lechleri*, usado por povos tradicionais para cicatrização de feridas e que também demonstra atividade antimicrobiana na literatura científica [2]. Neste estudo, buscou-se caracterizar e identificar as substâncias bioativas presentes, bem como avaliar a atividade antimicrobiana do látex, suas frações e substâncias isoladas. O látex, obtido do caule da *C. lechleri*, coletado na região norte do Brasil, passou por processos de extração com solventes orgânicos, purificação e análise da composição química por métodos cromatográficos e espectroscópicos. A avaliação da atividade biológica foi realizada pelo método de microdiluição, a fim de determinar a concentração inibitória mínima contra espécies de *Sporothrix*. As análises por cromatografia em camada fina do extrato bruto do látex e das frações obtidas após técnicas cromatográficas de isolamento indicaram a presença de compostos fenólicos e alcaloides. Após a análise dos cromatogramas obtidos pela cromatografia líquida de alta eficiência acoplada à espectrometria de massas de alta resolução foi possível determinar a presença do alcaloide magnoflorina e da taspina no látex como as substâncias majoritárias, sendo a taspina isolada e caracterizada por ressonância magnética nuclear. Nas análises microbiológicas, o látex demonstrou inibição na faixa de concentração de 8 a 250 µg/mL para *Sporothrix schenckii* e *S. brasiliensis* resistentes. Esses resultados destacam o potencial terapêutico do látex de *C. lechleri* como uma alternativa promissora no combate a infecções antimicrobianas de fungos do gênero *Sporothrix*. Agradecimentos a FAPEAM Edital nº 006/2019, PROEP/CNPq 440011/2022-1, MCTI CNPq 406238/2022-7.

Palavras-chave: *Croton lechleri*. Alcaloides. Fenólicos. Esporotricose.

Referências:

[1] Orofino-costa, R. *et al.* Sporotrichosis: An update on epidemiology, etiopathogenesis, laboratory and clinical therapeutics. Anais Brasileiros de Dermatologia, v. 92, n. 5, p. 606–620, 2017.

[2] Roumy, V. *et al.* In vitro antimicrobial activity of traditional plant used in mestizo shamanism from the Peruvian amazon in case of infectious diseases. Pharmacognosy Magazine, v. 11, n. 44, p. 625, 2015.

Avaliação antileishmania de preparados com extratos aquosos do gênero *Himatanthus*

Almeida, Maíra¹, Maria, Ana Clara¹, Cruz, Jefferson¹, Silva, Maria Athana¹, Ferreira, José Luiz², Silva, Jefferson³, Garcia, Andreza⁴, Rodrigues, Igor⁴, Amaral, Ana Claudia¹.

1) Laboratório de Plantas Medicinais e Derivados-PN1, ITF-Farmanguinhos, FIOCRUZ, RJ, Brasil. maira-haddad@hotmail.com, amaral_99@yahoo.com.br;

2) Faculdade de Farmácia, UFF, RJ, Brasil;

3) Laboratório de Cromatografia, DQ, UFAM, AM, Brasil;

4) Faculdade de Farmácia, UFRJ, RJ, Brasil.

O gênero *Himatanthus* (Apocynaceae) é nativo do Brasil, e se encontra predominantemente na região Amazônica. É utilizado popularmente como anti-inflamatório, cicatrizante, antiparasitário e anticâncer, e essas propriedades medicinais estão relacionadas à presença de terpenoides como o acetato de lupeol, β -amirina, allamandina e fenólicos como o plumerídeo, ácido cafeico, miricetina e quercetina [1]. É utilizado pelas comunidades locais do Norte para tratamento de feridas de várias doenças, entre elas a leishmaniose, uma doença endêmica e negligenciada no Brasil [2]. Os tratamentos para essa doença são eficazes, porém altamente tóxicos para os pacientes [3]. Desse modo, o objetivo deste trabalho foi desenvolver preparados com extratos das cascas de espécies de *Himatanthus* com atividade antileishmania. Cascas de duas espécies de *Himatanthus* foram coletadas em Manaus/AM, e estão sob identificação botânica. Os extratos aquosos HAQ1 e HAQ2 foram filtrados, secos e analisados por CLAE-EMAR em coluna C-18 e fase móvel contendo água ácida 0,1% e acetonitrila em gradiente crescente (5 a 75% da fase orgânica). Os preparados para utilização nos ensaios biológicos foram elaborados com os extratos aquosos HAQ1 e HAQ2 separadamente e uma mistura de surfactantes (Tween 20 e Span 80). Os surfactantes foram vertidos na água com agitação magnética a 400 rpm e aquecimento por 30 min, e após a mistura retornar a temperatura ambiente, os extratos foram incorporados à mistura com auxílio de Turrax por 5 min. O tamanho de gotícula e índice de polidispersão foi avaliado por aparelho Zetasizer em triplicata com valores médios de 279nm e 0,248 (PHAQ1) e 276 nm e 0,261 (PHAQ2), respectivamente. A análise dos cromatogramas obtidos por CLAE-EMAR mostrou a presença de fenólicos como ácidos gálico, cafeico e vanílico, miricetina, quercitrina, apigenina, e terpenoides glicosilados, como o plumerídeo, em ambos os preparados aquosos. No ensaio *in vitro* contra as formas promastigotas de *Leishmania amazonensis* os preparados com os extratos mostraram inibição com CI_{50} de 4,2 (PHAQ2) e 4,9 (PHAQ1) $\mu\text{g/mL}$. A pentamidina foi utilizada como padrão de referência com CI_{50} de 3,7 $\mu\text{g/mL}$. Os resultados demonstraram atividade antileishmania dos formulados PHAQ1 e PHAQ2 comparável a um dos medicamentos utilizados para o tratamento da leishmaniose. As decorrências deste estudo incentivam outras análises visando o desenvolvimento do potencial antileishmania de preparados de espécies do gênero *Himatanthus*.

Palavras-chave: Apocynaceae, antileishmania, extrato aquoso, cromatografia.

Referências:

[1] SOARES, F. P. et al. *Himatanthus* Willd. ex Schult. (Apocynaceae): Review. *Pharmacognosy Review*, v. 10, n. 19, p. 6-10, 2016.

[2] SOARES, D. C. et al. Leishmanicidal activity of *Himatanthus sucuuba* latex against *Leishmania amazonensis*. *Parasitology international*, v. 59, n. 2, p. 173-177, 2010.

[3] WHO. World Health Organization, Leishmaniasis. 2023. Disponível em https://www.who.int/health-topics/leishmaniasis#tab=tab_1.

Potencial terapêutico de fração rica em flavonoides de *Fridericia chica* na pneumonia murina

Chagas, Maria do Socorro dos Santos^{1,3}; Brito, Maria Alice dos Santos Mascarenhas^{1*}; Moragas-Tellis, Carla Junqueira²; Silva, Adriana Ribeiro³; Gonçalves-de-Albuquerque, Cassiano Filipe³; Behrens, Maria Dutra¹.

1) Laboratório de Produtos Naturais para Saúde Pública; Instituto de Tecnologia em Fármacos; Fundação Oswaldo Cruz

2) Laboratório de Imunofarmacologia; Instituto Oswaldo Cruz; Fundação Oswaldo Cruz.

3) Departamento de Farmacologia; Instituto Biomédico; Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro. *email autor correspondente:bmd.mariasmbrito@gmail.com

A pneumonia é uma doença inflamatória, de manifestação aguda ou crônica, causada por vários agentes etiológicos, entre os quais está *Pseudomonas aeruginosa*. Este importante patógeno oportunista humano é capaz de causar severas infecções em pacientes imunodeprimidos ou acometidos por fibrose cística. Por se tratar de uma patologia com elevada taxa de mortalidade, principalmente entre a população idosa e crianças [1], devido ao aumento da resistência microbiana aos medicamentos, torna-se cada vez mais relevante a busca de novas alternativas terapêuticas [2]. Neste contexto destacam-se as plantas medicinais como potenciais fontes de novos fármacos com atividade antimicrobiana. *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann (Bignoniaceae), que compõe a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS (Rennisus), tem despontado como possível agente antimicrobiano, especialmente pela presença de flavonoides em suas folhas [3]. O presente trabalho tem como objetivo obter e caracterizar uma fração rica em flavonoides de *F. chica* e avaliar seu potencial terapêutico em um modelo de pneumonia murina induzida por *P. aeruginosa*. Para isso, o extrato bruto de *F. chica*, obtido por maceração hidroalcoólica (7:3; v/v) foi fracionado por partição líquido-líquido e processos cromatográficos em coluna de Sephadex LH-20, resultando em uma fração rica em flavonoides (FCF), caracterizada por Cromatografia em Camada Delgada (CCD) e Cromatografia a Líquido de Alta Eficiência com por absorção de luz ultravioleta (CLAE-UV). FCF foi administrada por via oral na dose de 100 mg/kg em camundongos Swiss macho (4-6 semanas), após infecção intratraqueal com *P. aeruginosa*. Foram coletadas amostras de sangue periférico (SP) e lavado broncoalveolar (LBA) para análises celulares e microbiológicas. Após incubação das amostras em placas com meio TSA, foram contadas as unidades formadoras de colônias (UFCs). Luteolina, apigenina e escutelareína foram as flavonas identificadas, a partir de seu isolamento e/ou por comparação com amostras autênticas, como constituintes majoritários da fração FCF. Após tratamento com a fração, verificou-se a redução dos leucócitos totais, células mononucleares e neutrófilos no SP e no LBA ($p < 0,05$) e ainda a diminuição das UFCs no LBA ($p < 0,05$) de camundongos desafiados com *Pseudomonas aeruginosa*. Estes resultados corroboram dados de literatura sobre o potencial anti-inflamatório [4] e antimicrobiano [5] dos flavonoides de *F. chica*. Agradecimentos: CNPq, FAPERJ, CAPES, UNIRIO, FIOCRUZ, IOC, FARMANGUINHOS.

Palavras-chave: *Pseudomonas aeruginosa*; *Fridericia chica*; pneumonia.

Referências:

- [1] TORRES, A. et al. Pneumonia. Nature Reviews Diseases Primers. Springer Science and Media LLC, v. 7, n. 25, 8 abr. 2021.
- [2] CHANDRA, H. Plants, v.6, n.2, plants6020016, 2021
- [3] DO NASCIMENTO, Pharmaceuticals., v. 15, n.6, ph15060658, 2022.
- [4] VASCONCELOS, C. C. et al. Molecular Sciences, v. 20, n. 19, p. 4717, 23 set. 2019.
- [5] VIOLANTE, I. M. P. et al. Natural Product Research, v. 35, n. 23, p. 5287-5293, 2021.

Atividade antiproliferativa *in vitro* e *in silico* de *p*-cimeno e seus derivados 7-oxigenados sobre linhagens tumorais humanas

Souza, Natália Plínio¹; Fontão, Ana Paula Gregório Alves²; Sampaio, André Luiz Franco²; Mazzei, José Luiz¹

1) Laboratório de Tecnologia para Biodiversidade em Saúde, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. nataliaplinio@hotmail.com, jose.mazzei@fiocruz.br

2) Laboratório de Farmacologia Molecular, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

O potencial antitumoral de substâncias com estrutura hidrocarbônica do *p*-mentano tem sido extensivamente estudado, a exemplo do limoneno e seus derivados, alguns já testados clinicamente até fase I/II [1]. Apesar de *p*-cimeno (1), de esqueleto *p*-mentânico, apresentar baixa atividade *in vitro* contra MCF-7 [2], a indução à citotoxicidade pelo seu derivado cuminaldeído (2) tem sido extensivamente relatada [3]. Porém, a literatura carece de avaliação de citotoxicidade pelo álcool cumínico (3) e ácido cumínico (4), este com apenas um relato sobre HepG2 [4]. Uma vez que essas substâncias são encontradas na composição de diversos produtos naturais largamente comercializados, a exemplo da semente de cominho [5], o conhecimento de suas propriedades contra células tumorais pode contribuir para a investigação de possível uso terapêutico. O presente estudo teve o objetivo de avaliar o potencial antitumoral *in vitro* e *in silico* de 1-4 em linhagens tumorais humanas. Foi incluído nesse estudo o sal sódico de 4. As substâncias foram certificadas por CG, FTIR e TGA. A atividade antiproliferativa das substâncias a 100 μ M (em 0,3 % de DMSO) foi investigada (n=6), pelo método com MTT, após 48 h de incubação com linhagens cancerígenas humanas (Calu-3, SK-MEL-28, K562, K562 Lucena-1, Jurkat, Caco-2, MDA-MB-231, THP-1 e U87-MG) e uma não cancerígena (HEK 293). A estaurosporina 1 μ M foi aplicada como controle positivo e o veículo foi o negativo. A atividade *in silico*, em linhagens tumorais e não tumorais humanas, foi avaliada como a probabilidade de serem ativas ($P_a \geq 0,40$) pelo servidor CLC-Pred. Apenas 2 induziu citotoxicidade significativa *in vitro* ($p < 0,001$, ANOVA e Tukey), a qual foi baixa ($31 \pm 5\%$) e sobre Calu-3 (carcinoma pulmonar humano). A ausência de atividade *in vitro* ($p > 0,05$) nas demais linhagens, inclusive de 1, 3 e 4, corrobora com a predição *in silico* com $P_a \leq 0,24$, exceto para 2 na linhagem MDA-MB-231 ($P_a 0,47$). A ausência de potencial citotóxico em linhagens tumorais pelo 3, 4 e 5 foi aqui extensivamente comprovada pela primeira vez. A citotoxicidade *in vitro* encontrada de 2 corrobora o determinado na literatura sobre a linhagem A549 [3]. Estudos devem ser realizados para avaliar a atividade antiproliferativa *in vitro* dessas substâncias em linhagens tumorais que apresentaram maior seletividade e especificidade preditas *in silico*, a exemplo de todas as substâncias sobre A2780cisR ($P_a 0,83-0,94$), GIST430 ($P_a 0,57-0,72$) e SK-MEL-1 ($P_a 0,46-0,55$). Agradecimentos: Rede de Plataformas Tecnológicas da Fiocruz, Setor de Substância Química de Referência do INCQS/Fiocruz. Apoio: Capes, CNPq/Farmanguinhos-Fiocruz PROEP 407841/2017-2 e 440023/2022-0.

Palavras-chave: *p*-mentano, *p*-cimeno, cuminaldeído, antiproliferativo, câncer.

Referências:

- [1] Santos PG, Paumgarten FJR, Siani AC. On the anticancer clinical activity of perillyl alcohol and limonene: A critical assessment of the outcomes. *Open J Pharmacol Pharmacother*, v. 7, p. 13-21, 2022.
- [2] Fitsiou E, et al. Antioxidant and antiproliferative properties of the essential oils of *Satureja thymbra* and *Satureja parnassica* and their major constituents. *Anticancer Res*, v. 36, p. 5757-5763, 2016.
- [3] Chen TW, et al. Discovery of a novel anti-cancer agent targeting both topoisomerase I & II as well as telomerase activities in human lung adenocarcinoma A549 cells in vitro and in vivo: *Cinnamomum verum* component cuminaldehyde. *Curr Cancer Drug Targets*, n. 16, p. 796-806, 2016.
- [4] Abdel-Aal MM, et al. Bioguided screening for cytotoxic active constituents of *Cuminum cyminum* volatile oil. *Zagazig J Pharm Sci*, n. 27, p. 1-7, 2018.
- [5] Kan Y, et al. Composition of essential oil of *Cuminum cyminum* L. according to harvesting times. *Eur J Pharm Sci*, v. 4, p. 25-29, 2007.

Proteases e Inibidores de Proteases de *Cajanus cajan* L. Millsp. como Agentes Terapêuticos para as Leishmanioses.

Teixeira, Érika Maria Ferreira¹; Cruz, Nicole Cristina¹; Silva-López, Raquel Elisa¹

1) Laboratório de Produtos Naturais em Saúde Pública, Departamento de Produtos Naturais, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. raquel.lopez@fiocruz.br

O feijão-guandu (*Cajanus cajan* L.) Millsp. é uma leguminosa rica em proteínas, cultivada em regiões tropicais e semitropicais do mundo, sendo a principal fonte de proteína para bilhões de habitantes em países em desenvolvimento [1]. Estudos anteriores mostraram que folhas de *C. cajan* são fontes de diferentes inibidores de proteases (IPs) [2]. A inibição da serino protease secretada de *Leishmania amazonensis* (LSP III) leva o parasito à morte, logo, pode ser alvo terapêutico em potencial [3]. O objetivo da pesquisa é isolar e purificar o TIC, um IP do tipo tripsina, a partir de um extrato fosfato de folhas de *C. cajan* (CC-P); estudar as características bioquímicas, cinéticas e estruturais do TIC; avaliar a atividade inibitória sobre a LSPIII. As folhas de *C. cajan* foram coletadas na Plataforma Agroecológica de Fitomedicamentos (PAF) da FIOCRUZ, e a planta foi depositada no PAF (CBPM 671/PAF). As folhas frescas foram pulverizadas e as proteínas extraídas utilizando tampão fosfato. O teor de proteínas foi determinado pelo método de Bradford [4] e as atividades de IP foram realizadas utilizando tripsina, papaína e pepsina. O TIC foi purificado por cromatografia de afinidade em coluna Tripsina-agarose. A homogeneidade e atividade do IP foram realizadas por análises em SDS-PAGE. Os parâmetros cinéticos de TIC, K_i , IC_{50} , foram obtidos utilizando tripsina bovina e N α -p-Tosil-L-argininil metil ester (L-TAME) como substrato, e os dados analisados pelo programa GraphPad Prism versão 6.0. A espectrometria de massa (EM) foi empregada para estudar a sequência primária do TIC. O TIC foi purificado por uma etapa de cromatografia de afinidade. SDS-PAGE revelou uma banda com cerca de 15 kDa com expressiva atividade inibidora de tripsina por zimografia. O TIC apresentou maior afinidade pela tripsina do que pela quimotripsina e foi um inibidor competitivo para ambas as serino proteases, além de inibir quase completamente (98%) a atividade da LSPIII. A análise por EM identificou a proteína como um inibidor de tripsina do tipo Kunitz [5]. É a primeira vez que um inibidor de tripsina foi isolado e caracterizado de folhas de *C. cajan* com inibição expressiva da LSPIII. Novos estudos sobre a citotoxicidade da TIC em parasitos do gênero *Leishmania* serão realizados para reforçar seu potencial anti-*Leishmania*. Agradecimentos: FIOCRUZ, CNPq e CAPES.

Palavras-chave: *Cajanus cajan*; inibidor de tripsina; Serino protease de *Leishmania*.

Referências:

- [1] Silva-López, R.E. Inibidores de Proteases Oriundos de Plantas: Uma Abordagem Útil para o Desenvolvimento de Novos Fármacos. Revista Fitos, v. 4(1) p. 108-119, 2009.
- [2] Teixeira, E. M. G. F. & Silva-López, R. E. (*Cajanus cajan* (L.) Millsp.) Fabaceae: uma revisão dos principais constituintes químicos e atividades farmacológicas. Revista Fitos. Vol 16, (2): 215-230, 2022. [3] Silva-López, R.E., Morgado-Díaz, J.A. & De Simone, S.G. 2007. Effects of serine protease inhibitors on viability and morphology of *Leishmania (Leishmania) amazonensis* promastigotes. Parasitol Res 101: 1627-1635.
- [4] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, v. 72 p. 248–254, 1976.
- [5] Teixeira, E. M. G. F. Inibidores de protease de folhas de *Cajanus Cajan* e seu efeito citotóxico para células tumorais. 2020. 96 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Farmacêuticas) - Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2020.

Avaliação sazonal dos teores de 3-desoxiantocianidinas em quatro morfotipos de *Fridericia chica* (Bonpl.) L.G.Lohmann (Bignoniaceae)

Souza, Paulo Victor Ramos de¹; Ramos, Ygor Jesse²; Moragas-Tellis, Carla Junqueira¹; Behrens, Maria Dutra¹; Moreira, Davyson de Lima³.

1) Laboratório de Produtos Naturais para Saúde Pública, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. paulo.ramos@fiocruz.br

2) Laboratório Farmácia da Terra, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador, BA, Brasil.

3) Laboratório de Produtos Naturais e Bioquímica, Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. davysonmoreira@jbrj.gov.br

Fridericia chica (Bonpl.) L.G.Lohmann [sinonímia *Arrabidaea chica* (Humb. & Bonpl.) B. Verl.], empregada na medicina tradicional e popular principalmente como anti-inflamatória e cicatrizante, compõe a Relação Nacional de Plantas Medicinais de Interesse ao Sistema Único de Saúde (Rennis) [1], [2]. Portanto, estudos de variação sazonal de seus constituintes químicos de interesse são necessários, visando garantir qualidade, eficácia e segurança dos produtos derivados. Conhecida como crajiru ou pariri, entre outros nomes, *F. chica* é caracterizada pela presença de 3-desoxiantocianidinas, flavonoides que conferem intensa coloração vermelha às suas folhas secas e extratos [3]. O presente estudo objetivou avaliar a variação dos teores de antocianidinas, ao longo de dois anos, em quatro morfotipos de *F. chica* (AC1/AC2/AC3/AC4). Extratos etanólicos 1:10 (m/v) foram obtidos a partir 10g de folhas secas e moídas, por extração acelerada em ultrassom (30 min), e analisados por CLAE-DAD, com método específico para antocianidinas desenvolvido e validado por nosso grupo de pesquisa [4]. Foi possível identificar, em cromatogramas obtidos a 480nm, a presença das quatro 3-desoxiantocianinas características do perfil de *F. chica* — 3'-hidroxi-carajurona (tR = 11,8 min), carajurona (tR = 12,5 min), 3'-hidroxi-carajurina (tR = 12,8 min) e carajurina (tR = 14,2 min) — mediante comparação com os constituintes previamente isolados e dados de literatura. Os percentuais de antocianidinas nos extratos foram calculados com base nos dados da curva analítica obtida a partir de diluições conhecidas de carajurina isolada (20-200 µg/mL). Em AC1 e AC2, a carajurina destacou-se com os maiores teores nos dois anos de coleta, variando de 8,52 a 32,83 mg/g e de 33,57 a 81,90 mg/g, respectivamente. Em AC3 e AC4, os maiores percentuais foram de 3'-hidroxi-carajurona, variando de 1,97 a 14,07 mg/g e 4,58 a 19,43 mg/g, respectivamente. Os resultados mostram que meses mais chuvosos estão relacionados a maiores teores de antocianidinas totais. AC3 foi o único morfotipo que apresentou as quatro substâncias identificadas em todas as coletas ao longo dos dois anos. Mesmo com as nuances climáticas, os morfotipos AC1 e AC2 tendem a produzir carajurina em concentrações maiores, enquanto os morfotipos AC3 e AC4 são mais ricos em 3'-hidroxi-carajurona. Tais informações são de grande relevância para definição das épocas de coleta, visando à obtenção dos insumos ativos da espécie. Agradecimentos: PAF/Farmanguinhos, ENSP, JBRJ

Palavras-chave: *Fridericia chica*, antocianidinas, CLAE-DAD, variação sazonal, composição química.

Referências:

[1] BATALHA, A. D. S. J. *et al.* Therapeutic Potential of Leaves from *Fridericia chica* (Bonpl.) L. G. Lohmann: Botanical Aspects, Phytochemical and Biological, Anti-Inflammatory, Antioxidant and Healing Action. *Biomolecules*, v. 19, n. 9, p. 1208, 2022.

[2] BRASIL. Ministério da Saúde. Biblioteca Virtual em Saúde. MS elabora Relação de Plantas Medicinais de Interesse ao SUS. Brasília: Agência Saúde. Publicação em 06 mar 2009. Acesso 28 set 2023. Disponível em: http://bvsms.saude.gov.br/bvs/sus/pdf/marco/ms_relacao_plantas_medicinais_sus_0603.pdf. Brasília: Ministério da Saúde, 2009.

[3] MARÇO, P. H.; POPPI, R. J. Procedimentos analíticos para identificação de antocianidinas presentes em extratos naturais. *Química Nova*, v. 31, n. 5, p. 1218-1223, 2008.

[4] SOUZA, P. V. R. *et al.* Validation of a New HPLC-DAD Method to Quantify 3-Deoxyanthocyanidins Based on Carajurin in Medicinal Plants and for Chemical Ecology Studies. *Plants*, v. 12, n. 5, p. 1057, 2023.

Metodologias para o isolamento de metaloproteases de *Canavalia ensiformis*

Brasil, Thiago Maldonado^{1,2}; Siani, Antônio Carlos²; Silva-López, Raquel Elisa^{1*}

1) Laboratório de Produtos Naturais em Saúde Pública, Departamento de Produtos Naturais, Instituto de Tecnologia em Fármacos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

2) Laboratório de Tecnologia para Biodiversidade em Saúde, Instituto de Tecnologia em Fármacos, FIOCRUZ, Rio de Janeiro, RJ, Brazil *raquel.lopez@fiocruz.br

As proteases são essenciais na fisiologia de todos os organismos. Em sementes da leguminosa tropical *Canavalia ensiformis* foram identificadas uma cisteíno e duas serino proteases diferentes. Nosso grupo purificou uma serino protease semelhante à cucumisina de folhas de *C. ensiformis*, com características distintas das proteases anteriores [1]. O objetivo deste trabalho foi isolar metaloproteases do extrato aquoso foliar de *C. ensiformis* (CE-A), usando três metodologias que incluíram três colunas de cromatografia de afinidade e diferentes tampões; preparar a coluna de cromatografia de afinidade Gelatina-Sepharose; estudar as atividades das metaloproteases com substratos peptídicos e proteicos; analisar a influência do pH na atividade das metaloproteases; e estudar seus perfis eletroforéticos. As folhas de *C. ensiformis* foram coletadas na Plataforma Agroecológica de Fitomedicação (PAF) da FIOCRUZ, Rio de Janeiro, e sua excicata depositada no Jardim Botânico do Rio de Janeiro, sob número RB-550.352. As folhas frescas foram pulverizadas em N₂ líquido e extraídas com água à 25°C em agitação por 2 h. O teor proteico foi estimado por Bradford [2] e as atividades de proteases foram ensaiadas usando hemoglobina, albumina bovina, caseína, gelatina, N-Benzoyl-L-tyrosine ethyl ester (BTEE) N α -p-Tosyl-L-arginine methyl ester (L-TAME) como substratos [3]. O CE-A foi dialisado contra água, centrifugado (10.000 x g/30 min/4°C) e o sobrenadante aplicado nas colunas: Gelatina-Agarose®, Colagen-Agarose® e Gelatina-Sepharose, as colunas de agarose foram compradas da Sigma-Aldrich e a Gelatina-Sepharose preparada usando Sepharose-CNBr. O perfil proteico foi analisado em géis de poliacrilamida contendo dodecilsulfato de sódio (SDS-PAGE) de acordo com o método de Laemmli [4]. Os resultados preliminares indicaram que o melhor rendimento (86 a 105%) e a maior purificação em relação ao extrato bruto (40 a 60 vezes) foram observados usando colunas de Gelatina e foram obtidas as frações CE-AGelA e CE-AGelS. As atividades máximas de ambas as metaloproteases CE-AGel estavam em pH 9.0. Os melhores substratos para ambas as frações foram gelatina, como esperado, e BTEE e L-TAME. A proteína majoritária tem 63 kDa em SDS-PAGE sob condições de não redução. Nossos resultados são promissores no isolamento destas proteases. Contudo, experimentos adicionais são necessários para caracterizar tais proteases. Este é o primeiro relato sobre metaloproteases em *C. ensiformis*. Agradecimentos: FIOCRUZ e CAPES

Palavras-chave: *Canavalia ensiformis*; Cromatografia de afinidade; atividade de metaloprotease.

Referências:

[1] Gonçalves RN; Kalume DE; Ferrara MA; Silva-López RE. A novel cucumisin-like serine protease from leaf of legume *Canavalia ensiformis*. J Plant Biochem Biotech v. 30, p. 147–159, 2021.

[2] Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal Biochem, v. 72 p. 248–254, 1976.

[3] Gonçalves RN; Barbosa SDG; Silva-López RE. Proteases from *Canavalia ensiformis*: active and thermostable enzymes with potential of application in biotechnology. Biotechnol Res Int v. 2016 n. 3427098, 2016.

[4] Laemmli UK. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. Nature, v. 227, p. 680–685, 1970

Planejamento, síntese e avaliação de novos derivados 3-nitro-1,2,4-triazólicos como possíveis agentes anti-*T. cruzi*

Desiderio, Alexandre Felipe de Araujo¹; Castelo-Branco, Frederico Silva¹; França, Rodolfo Rodrigo Florido¹; Menozzi, Cheyene Almeida Celestino¹; Junior, Policarpo Ademar Sales²; Boechat, Nubia¹

1) Fundação Oswaldo Cruz - Fiocruz, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Vice-diretoria de Ensino, Pesquisa e Inovação - VDEPI, Departamento de Síntese de Fármacos e Bioativos - DSFB, Laboratório de Síntese de Fármacos - LASFAR. alexandrefadesiderio@gmail.com; nubia.boechat@fiocruz.br

2) Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz) - Instituto René Rachou (IRR)²

A doença de Chagas (DC) é provocada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi*. Os fármacos benznidazol e nifurtimox, utilizados no tratamento da DC, só são eficazes na fase aguda e causam muitos efeitos adversos [1]. Na busca por novos fármacos, os inibidores da biossíntese do ergosterol (IBE) são promissores e têm como alvo a enzima CYP51 [2]. Análogos do posaconazol desenvolvidos pelo nosso grupo apresentaram alta potência e baixa eficácia anti-*T. cruzi* [4]. Em outros estudos, a inclusão do 3-nitro-1,2,4-triazol nos derivados aumentou a sua potência anti-*T. cruzi*, reduziu a toxicidade e conferiu atividade nas enzimas nitroredutase [3]. Assim, este projeto visa a síntese de novos derivados 3-nitro-1,2,4-triazólicos como possíveis IBEs e substratos das enzimas nitroredutases. Os novos derivados foram planejados substituindo o grupo 1,2,4-triazol dos IBEs mais ativos pelo 3-nitro-1,2,4-triazol. Ademais, inserimos os sistemas aromáticos e fenoxilas de baixo custo dos análogos com melhores resultados. A síntese é realizada em quatro etapas: acilação do anel aromático, substituição nucleofílica pelos fenóis correspondentes, epoxidação e abertura dos anéis epóxidos pelo 3-nitro-1H-1,2,4-triazol. A atividade biológica será avaliada *in vitro* em modelo intracelular usando células L929 de fibroblastos de camundongos infectadas com tripomastigostas da cepa Tulahuen do parasita. Os compostos finais da primeira série planejada apresentaram potente atividade inibitória contra o *T. cruzi*, sendo mais eficazes que o benznidazol, fármaco de referência para a doença de Chagas. Na menor concentração testada (MCT), inibiram 90% do *T. cruzi* e novos testes serão realizados para determinar a concentração inibitória média (IC₅₀) em concentrações ainda mais baixas. Ademais, serão realizados novos testes para determinar com precisão os parâmetros de concentração citotóxica média (CC₅₀) e índice de seletividade (IS). Os compostos finais da segunda série já foram sintetizados e estão em processo de purificação para a avaliação *in vitro*. Foram obtidos derivados 3-nitro-1,2,4-triazol com potente atividade anti-*T. cruzi* por meio de uma rota sintética de poucas etapas e baixo custo. Pretende-se purificar os derivados finais da segunda série, determinar os valores de IC₅₀, CC₅₀ e IS, e realizar testes com as enzimas nitroredutase tipo I e CYP51 para confirmar os mecanismos de ação propostos. Os autores agradecem ao CNPQ e à FIOCRUZ pelo suporte financeiro e estrutural.

Palavras-chave: Doença de Chagas; *Trypanosoma cruzi*; Nitrotriazol;

Referências:

- [1] DOCAMPO, R.; URBINA, J. A. Specific chemotherapy of Chagas diseases: controversies and advances. Trends in Parasitology, v. 19, pp. 495–501, 2003.
- [2] BUCKNER, F. S. et al. Efficient technique for screening drugs for activity against *Trypanosoma cruzi* using parasites expressing beta-galactosidase. Journal of Antimicrobial Agents and Chemotherapy, v. 40, pp. 2592–2597, 1996.
- [3] PAPADOPOULOU, M. V. et al. Novel 3-nitrotriazole-based amides and carbinols as bifunctional antichagasic agents. Journal of Medicinal Chemistry, v. 58, pp. 1307–1319, 2015.
- [4] CASTELO-BRANCO, F. S. Derivados acílicos da isoniazida e novos 1,2,4-triazóis: contribuições na luta contra a tuberculose e a doença de Chagas. Tese de Doutorado – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2015.

Síntese e Avaliação Tripanocida e Mutagênica de Nitroimidazóis Substituídos

Vieira, Camille Delfino¹; Castelo-Branco, Frederico Silva²; Boechat, Núbia A.²

1) Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. cdv.quimica@gmail.com

2) Laboratório de Síntese de Fármacos, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. frederico.castelo@fiocruz.br; nubia.boechat@fiocruz.br

No Brasil, entre 2011-2021, foram notificados cerca de 3.000 casos da Doença de Chagas (DC), uma doença endêmica na América Latina, porém com mais de 30 mil novos casos anuais globalmente. Em 2019, a DC causou cerca de 10 mil mortes.[1] O tratamento atual com o fármaco benznidazol (BZ), tem uma taxa de efeitos adversos (EA) de 53%. Quando ocorre intolerância ou resistência ao BZ, o Nifurtimox é usado como alternativa, mesmo apresentando 85% de frequência de EA.[2] Ambos os fármacos curam apenas na fase aguda da doença. Os fármacos contendo núcleos nitroimidazólicos, como o BZ, são importantes na atividade contra o *Trypanosoma cruzi* e outros parasitos, como é observado no metronidazol, megazol e fexinidazol.[3,4] Esses núcleos já foram associados à mutagenicidade, porém nosso grupo já desmistificou essa relação, demonstrando que a mutagenicidade não está associada somente com o nitroimidazol, mas com todo um contexto molecular. [5] Com a existência de novos casos anualmente, a necessidade de um tratamento para ambas as fases, os medicamentos vigentes com muitos EA, que este trabalho tem como objetivo sintetizar e avaliar a atividade anti-*T. cruzi* e de citotoxicidade de novos derivados de 5-nitroimidazóis e de 2-nitroimidazóis para o desenvolvimento de novos fármacos com potencial atividade na DC. A metodologia geral para a síntese desses derivados, compreende duas etapas: i) acilação das anilinas substituídas utilizando o cloreto de cloroacetila, formando as cloro-aceto-amidas correspondentes, ii) seguida da substituição nucleofílica bimolecular com os nitroimidazóis (2-nitroimidazol ou o 2-metil-5-nitroimidazol). Até o momento, foram sintetizados 21 produtos finais, com rendimentos entre 56 – 93%, e as substâncias foram caracterizadas pelas técnicas de Espectrometria de Massas, CG-EM, CLAE e RMN. Outros derivados da série estão no processo de obtenção, e em breve os produtos finais serão enviados para avaliação biológica utilizando um modelo de avaliação anti-*T. cruzi* intracelular, o qual emprega a cepa Tulahuen infectando fibroblastos L929. Como conclusão, as rotas propostas para a obtenção dos produtos planejados se mostraram efetivas, sendo estes obtidos em rendimentos considerados satisfatórios.

Palavras-chave: nitroimidazol; doença de chagas; mutagenicidade, azóis; *Trypanosoma cruzi*

Referências:

[1] DNDI. Chagas Disease. Disponível em: <<https://www.dndial.org/doencas/doenca-chagas/>>. Acesso em: março de 2021

[2] BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Protocolo Clínico e Diretrizes Terapêuticas da Doença de Chagas, n. 397, 2018.

[3] Carvalho, A.S. et al. Design, Synthesis and Activity Against *Trypanosoma cruzi* of Azaheterocyclic Analogs of Megazol, Medicinal Chemistry, v. 3, p. 460-465, 2007.

[4] Boechat, N. et al. Novel nitroimidazoles with trypanocidal and cell growth inhibition activities. Cytobios, v. 105, p. 83-90, 2001.

[5] Boechat, N. et al. Studies of genotoxicity and mutagenicity of nitroimidazoles: demystifying this critical relationship with the nitro group. Mem Inst Oswaldo Cruz, v. 110, p. 492-499, 2015.

Busca por novos ITRNN como potenciais inibidores do HIV-1

Leite, Clara¹; Leite, Debora¹; Bastos, Monica^{1,2}, Boechat, Nubia^{1,2}

1) Laboratório de síntese, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. claraefeito@gmail.com, debora.marinho@fiocruz.br, mmacedobastos@gmail.com, nboechat@gmail.com.

2) Programa de Pós-graduação Acadêmico em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos -Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

A enzima transcriptase reversa (TR) exerce um papel crucial no ciclo de replicação do vírus da imunodeficiência humana (HIV), sendo responsável pela conversão do genoma viral de RNA de fita única ao DNA de fita dupla. Os inibidores de TR podem ser divididos em duas classes: os inibidores nucleosídicos/nucleotídeos (ITRNs/ITRNT) e os não-nucleosídicos (ITRNNs). Os ITRNN apresentam elevada atividade antirretroviral, alta seletividade e toxicidade moderada, e por isso, integram o coquetel de medicamentos para tratamento de pacientes soropositivos. A eficácia clínica dos ITRNN tem sido limitada pelo surgimento de resistência a estes medicamentos, e desta forma, é necessário o desenvolvimento de inibidores mais potentes, com melhores perfis de resistência e menor toxicidade. [1-2] Uma abordagem promissora na descoberta de novos compostos biologicamente ativos é realizar modificações estruturais em um protótipo, utilizando núcleos com reconhecida atividade biológica. Desta forma, o objetivo deste trabalho consiste na síntese e caracterização estrutural de seis novos potenciais ITRNN, que futuramente, possam ser empregados no tratamento de pacientes portadores do vírus da AIDS ou serem bons protótipos na busca de fármacos inovadores. A metodologia sintética empregada para a obtenção dos produtos finais, consiste em três etapas reacionais. Após a formação do intermediário chave contendo o grupo hidrazina, os produtos finais serão obtidos através da formação do esqueleto fenilacetamida pela reação de adição a carbonila. Até o momento, foi realizada a síntese de nove moléculas, sendo um produto final inédito. Todas as moléculas apresentaram bons rendimentos e foram caracterizadas por métodos espectroscópicos e espectrométricos, comprovando a formação das estruturas químicas. Todos os compostos propostos neste trabalho foram planejados através da técnica de hibridação molecular da Química Medicinal, utilizando núcleos com ação anti-HIV como fragmentos farmacofóricos. Até o momento, a rota sintética mostrou-se viável e o cronograma do projeto está de acordo com o proposto. Após a obtenção e caracterização de todos os produtos planejados, serão realizadas a avaliação da atividade antirretroviral, bem como o perfil citotóxico de todos os compostos finais inéditos. Estes estudos serão conduzidos sob a supervisão da Dra. Luciana Jesus do Departamento de Virologia da UFRJ.

Palavras-chave: HIV, AIDS, ITRNN, pirimidinonas, fenilacetamida.

Referências:

[1] (De Clercq, E. Recent developments in the chemotherapy of HIV infections. *Pure and Applied Chemistry*, v. 70, n. 567-577, 1998).

[2] (Zhuang, C. *et al.* Development of non-nucleoside reverse transcriptase inhibitors (NNRTIs): our past twenty years. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, v. 10, n. 961-978, 2020).

Síntese e Avaliação Biológica de Tiazóis Derivados da Cânfora

Costa, Gabriel de Oliveira¹, Fachinetti, Victor¹, de Souza, Marcus Vinícius Nora¹

1) Laboratório de Síntese de Substâncias no Combate as Doenças Tropicais (SSCDT) - Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. costaf4rm@gmail.com, mvndesouza@gmail.com

O arcabouço da cânfora está presente em diversos produtos naturais que possuem reconhecida atividade biológica, tais como atividade anticâncer e [1,2]. Devido aos seus vários centros reativos, que incluem, a cânfora e seus derivados têm sido empregados como blocos de construção em química medicinal¹. Substâncias contendo o núcleo tiazólico também apresentam atividade relevante frente diversos a alvos biológicos [3]. O objetivo deste trabalho é a síntese de derivados da cânfora contendo o núcleo tiazólico. Esses heterociclos serão avaliados quanto a sua atividade anticâncer, antimicobacteriana, antifúngica e antileishmania. Para obtenção das substâncias propostas, inicialmente a cânfora reagiu com a tiossemicarbazida em etanol sob refluxo para obtenção do intermediário tiossemicarbazona. Em seguida, o intermediário tiossemicarbazona reagiu com diferentes bromoacetofenonas para obtenção dos produtos finais, através da síntese de Hantzsch [4] Na primeira etapa da reação, foi utilizado H₂SO₄ como catalisador ácido visando melhores rendimentos na obtenção de tiossemicarbazona. Na sequência, as moléculas finais, são formadas rapidamente a partir da reação de tiossemicarbazona com as respectivas bromoacetofenonas. Todas as moléculas proposta foram obtidas com rendimentos superiores a 90% através de uma metodologia simples e reprodutiva. As substâncias foram caracterizadas por métodos espectroscópicos e espectrométricos, estando em total acordo com a estrutura proposta.

Palavras-chave: Cânfora, Tiazol, Síntese, Ultrassom

Referências:

- [1] Mahdy, A. S.; *et. al.* Camphor: Synthesis, reactions and uses as Potential Moiety in the Development of Complexes and Organocatalyst. *Tetrahedron*, 121, 132913, 2022
- [2] Oreshko, V. V.; *et. al.* Synthesis and Antiviral Properties of Camphor-Derived Iminothiazolidine-4-Ones and 2,3-Dihydrothiazoles. *Molecules*, 27, 15, 4761, 2022
- [3] Petrou, A. *et. al.* Thiazole Ring – A biologically Active Scaffold. *Molecules*, 26, 11, 3166, 2021.
- [4] Hantzsch, A.; Weber, J.H. Ueber Verbindungen des Thiazols (Pyridins der Thiophenreihe). *Berichte der deutschen chemischen Gesellschaft*, 20, 3118-3132, 1887.

Derivados etinil-benzamidas como potenciais inibidores da proteína tirosina cinase BCR-ABL1

da Costa, Gabriela Pontes¹; do Nascimento, Mayara Salles Souza¹; dos Santos, Julliana Finotelli¹; Pimentel, Luiz Claudio Ferreira¹; Boechat, Núbia^{1,2}; Bastos, Mônica Macedo^{1,2}

1) Laboratório de Síntese, Instituto de Tecnologia em Fármacos — Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. pontescgabriela@gmail.com, luiz.pimentel@fiocruz.br, nboechat@gmail.com, mmacedobastos@gmail.com.

2) Programa de Pós-graduação Acadêmico em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos — Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

As proteínas tirosina cinases (PTCs) estão envolvidas em funções vitais no organismo, como metabolismo e regulação do ciclo celular. No entanto, quando se tornam ativas constitutivamente e independentes de ligantes, devido a alterações ocorridas, seja por mutação, superexpressão ou translocação cromossômica, ocorre a proliferação celular desregulada, que pode culminar em alguns tipos de neoplasias, como a Leucemia Mieloide Crônica (LMC).[1] O mesilato de imatinibe foi o primeiro representante da classe dos inibidores de tirosina cinase (ITC) BCR-ABL para o tratamento da LMC. No entanto, o aparecimento de resistências tem desafiado o tratamento com o uso deste inibidor. Este fato resultou no desenvolvimento de novos inibidores de segunda e terceira geração, tendo como representantes o nilotinibe, o dasatinibe, o bosutinibe (2ª geração) e o ponatinibe (3ª geração).[2] O ponatinibe é o único capaz de contornar a mutação T315I, presente no domínio da BCR-ABL1; contudo, os efeitos colaterais severos limitam o seu uso.[3] O objetivo deste projeto consiste na síntese, caracterização e avaliação antimieloproliferativa de cinco novos análogos do ponatinibe, mantendo-se os grupos etinil-benzamida, que é responsável por contornar a mutação T315I, com diferentes substituintes. A metodologia proposta para a obtenção dos compostos-alvo consiste em uma síntese convergente, com duas etapas reacionais, sendo a primeira uma reação de amidação, utilizando diferentes aminas, seguida de reação de acoplamento carbono-carbono. Até o momento foram sintetizados cinco intermediários e dois produtos finais, com bons rendimentos. Todas as moléculas foram caracterizadas por métodos espectroscópicos e espectrométricos, comprovando a formação da estrutura planejada. Os compostos propostos neste trabalho foram planejados utilizando a ferramenta da Química Medicinal conhecida por simplificação molecular. Até o momento, a rota sintética se mostrou viável e o cronograma do projeto está de acordo com o proposto.

Palavras-chave: Imatinibe, ponatinibe, cinases, leucemia, câncer.

Referências:

[1] Jiao, Q.; Bi, L.; Ren, Y.; et al. Advances in studies of tyrosine kinase inhibitors and their acquired resistance. *Mol Cancer* 2018, 17(36), 1-12.

[2] Alves, R.; Gonçalves, A. C.; Rutella, S.; et al. Resistance to Tyrosine Kinase Inhibitors in Chronic Myeloid Leukemia — From Molecular Mechanisms to Clinical Relevance. *Cancers* 2021, 13, 4820.

[3] Chan, O.; Talati, C.; Isenalmhe, L.; et al. Side-effects profile and outcomes of ponatinib in the treatment of chronic myeloid leucemia. *Blood Adv* 2020, 4(3), 530–538.

Síntese e potencial antiagregante plaquetário de novos derivados β -hidroxi sulfetos obtidos a partir do epóxido do β -pineno

Martins, Gustavo dos Santos¹; Santos, Bruno Maia da Silva²; Santiago, Pryscila³; Sathler, Plínio Cunha³; Finelli, Fernanda Gadini²; Leal, Ivana Correa Ramos¹

1) Laboratório de Produtos Naturais e Ensaio Biológicos – Faculdade de Farmácia, UFRJ, ² Laboratório de Síntese Orgânica – Instituto de Pesquisas de Produtos Naturais, UFRJ,

2) Laboratório de Hemostasia Experimental – Faculdade de Farmácia, UFRJ. martinsufrj.farma@gmail.com; ivanafarma@yahoo.com.br.

Monoterpenos, como o β -pineno, são metabólitos secundários amplamente utilizados na indústria devido às suas propriedades organolépticas.[1] Ele possui atividades farmacológicas promissoras, sendo utilizado como plataforma para a síntese de análogos com atividade antibacteriana, antifúngica e antitumoral.[2] Recentemente, estudos *in vitro* demonstraram que tioéteres obtidos a partir deste monoterpeno possuem a capacidade de inibir o processo de agregação plaquetária, tendo mecanismo de ação similar a fármacos comerciais, como o Ticagrelor.[3] Apesar dos resultados promissores, poucos análogos foram sintetizados até o momento, deixando uma lacuna para a exploração das potencialidades e mecanismos de ação desta classe de compostos. Os objetivos deste trabalho consistem em desenvolver uma metodologia para a síntese de β -hidroxi sulfetos a partir do β -pineno e avaliar a atividade antiagregante plaquetária dessas substâncias em modelos *in vitro*. Metodologicamente, nossa estratégia consiste na síntese dos derivados a partir da reação do epóxido do β -pineno com diferentes tióis. Diversos parâmetros reacionais serão investigados, tais como tipos de bases, solventes e temperatura. O epóxido de partida foi preparado na presença de Oxone® e NaHCO₃, sendo o produto isolado em 45% de rendimento após 30 minutos de reação. Já após os estudos de otimização da reação de tiólise, obtivemos o β -hidroxi sulfeto em 81% de rendimento, após tratamento do epóxido com sódio e tiofenol em MeOH, a 65 °C, por 6 horas. Em seguida, iniciamos o estudo de escopo, variando os grupos substituintes ligados ao anel aromático do tiofenol. Os resultados obtidos até o momento foram bastante satisfatórios, fornecendo os produtos em rendimentos de 51-85%. A presença de diferentes substituintes, como -Cl, -F, -Me, -OMe, -SMe e -NH₂, bem como o uso de tióis alifáticos foi bem tolerada nesta metodologia. Cabe ressaltar que, mesmo frente a substituintes nucleofílicos, como o grupo amino, observamos excelente quimiosseletividade, levando à formação apenas do produto de tiólise. Dessa forma, a metodologia desenvolvida permite a síntese de β -hidroxi sulfetos a partir da tiólise do β -pineno, com rendimentos moderados a excelentes (51-85%). Novos derivados alifáticos e (hetero)aromáticos com diferentes substituintes estão sendo sintetizados. Ensaio *in vitro* estão em andamento para avaliação da atividade antiagregante plaquetária e hemocompatibilidade dos compostos obtidos.

Palavras-Chave: Anticoagulantes, β -hidroxi sulfetos, Pineno, Tiólise.

Referências:

[1] Zielińska-Błajet, M.; Feder-Kubis, J. Monoterpenes and Their Derivatives—Recent Development in Biological and Medical Applications. *Int. J. Mol. Sci.*, v. 21, p. 7078 - 7115, 2020.

[2] Salehi, B. *et al.* Therapeutic Potential of α - and β -Pinene: A Miracle Gift of Nature. *Biomolecules*, v. 9, p. 738 – 771, 2019.

[3] Ksenofontov, A. *et al.* Thioterpenoids as Potential Antithrombotic Drugs: Molecular Docking, Antiagregant, Anticoagulant and Antioxidant Activities. *Biomolecules*, v. 12, p. 1599 - 1611, 2022.

Criptococose associada ao HIV: novas moléculas híbridas com possível atividade contra os dois patógenos e desenvolvimento de um modelo celular de avaliação da coinfeção

Firmino, Íris¹; Bianco, Maria^{1,2}; Bastos, Monica¹, Boechat, Nubia¹

1) Laboratório de síntese, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. iriscalmeidaf@gmail.com, mmacedobastos@gmail.com, nboechat@gmail.com.

2) Programa de Pós-graduação Acadêmico em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos -Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. mariaconcz@hotmail.com.

O vírus da imunodeficiência humana (VIH ou HIV, em inglês *Human Immunodeficiency Vírus*) é o agente etiológico da síndrome da imunodeficiência adquirida (SIDA ou AIDS, do inglês *Acquired Immune Deficiency Syndrome*), que permanece como um problema de saúde mundial. O principal agravante é o quadro de imunossupressão gerado que aumenta a suscetibilidade dos pacientes soropositivos de adquirirem coinfeções, entre elas, pode-se destacar a meningite criptocócica que é responsável por 15% das mortes relacionadas à AIDS mundialmente.[1-3] Nesse sentido, é de suma importância o desenvolvimento de inibidores duais que apresentem atividade anti-HIV e antifúngica. O objetivo é realizar a síntese de oito novos híbridos derivados do fluconazol como potenciais multialvos e desenvolver um modelo celular de coinfeção HIV-criptococose, no qual seja possível testar as atividades anti-HIV e antifúngica dos compostos simultaneamente. A metodologia sintética empregada para a obtenção da primeira série de produtos consiste em seis etapas reacionais, e para a segunda série são quatro ou cinco etapas. Após a formação do intermediário chave, os produtos serão obtidos através da abertura de um epóxido com diferentes hidrazinas e com a zidovudina. Até o momento, para os resultados obtidos, foi realizada a síntese de seis moléculas, sendo um produto final inédito. Todas as moléculas apresentaram bons rendimentos e foram caracterizadas por métodos espectroscópicos e espectrométricos, comprovando a formação da estrutura planejada. Desta forma, todos os compostos propostos neste trabalho foram planejados utilizando a ferramenta da Química Medicinal conhecida por hibridação molecular, onde os grupos farmacofóricos empregados apresentam atividade inibitória estabelecidas tanto no criptococo quanto no HIV. Até o momento, a rota sintética mostrou-se viável e o cronograma do projeto está de acordo com o proposto. Após finalizada as etapas de síntese, serão realizadas a avaliação da atividade antirretroviral e antifúngica de todos os compostos finais inéditos.

Palavras-chave: HIV, AIDS, multialvo, meningite criptocócica.

Referências:

[1] VAISHNAV, YN; WONG-STAAAL, FA. Bioquímica da AIDS. Annu. Ver. Biochem. 1991, 60, 577-630.

[2] DE LIMA, SPS; et. al. Meningite em pessoas vivendo com HIV: Aspectos clínico epidemiológicos de casos em um hospital de referência no Estado do Pará, Brasil. Brazilian Journal of Health Review, 4, 11620-11638, 2021.

[3] LIN, X.; HEITMAN, J. The Biology of the Cryptococcus neoformans Species Complex. Annual Review of Microbiology, 60, 69-105, 2006.

Desenvolvimento de novos potenciais multialvos para a inibição da replicação do HIV-1

Brum, Isabelle¹; Leite, Debora¹; Bastos, Monica^{1,2}, Boechat, Nubia^{1,2}

1) Laboratório de síntese, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. isabellebrum29@gmail.com, debora.marinho@fiocruz.br, mmacedobastos@gmail.com, nboechat@gmail.com.

2) Programa de Pós-graduação Acadêmico em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos -Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. mmacedobastos@gmail.com, nboechat@gmail.com.

Os tratamentos recomendados para tratar a infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (HIV) baseiam-se em uma combinação de medicamentos antirretrovirais. Um componente essencial desta terapia são os fármacos pertencentes a classe dos inibidores da transcriptase reversa (TR) não nucleosídeos (ITRNN). No entanto, estes fármacos têm apresentado mecanismos de resistência, exigindo a busca de novas opções terapêuticas. Neste contexto, as pirimidinonas e as isatinas são bastante versáteis e vem ganhando muita atenção na Química Medicinal como bons protótipos na busca por novos antirretrovirais. As pirimidinonas estão intimamente relacionadas aos ácidos nucleicos, macromoléculas de extrema importância biológica que realizam a construção do material genético dos seres vivos, enquanto o núcleo da isatina se mostra presente em novas moléculas ativas na TR [1,2,3]. Desta forma, o objetivo deste projeto consiste na síntese e caracterização estrutural de dezoito novos potenciais ITRNN que possam ser empregados no tratamento de pacientes portadores do vírus da AIDS, ou serem bons protótipos na busca de fármacos inovadores. A metodologia sintética empregada para a obtenção da primeira série de produtos consiste em três etapas reacionais e, para a segunda e terceira série são quatro etapas. Ambas as séries se iniciam pela reação de Biginelli seguida da formação do intermediário chave, contendo o grupo hidrazina. Os produtos finais serão obtidos através da adição deste intermediário à carbonila cetônica da isatina. Até o momento, foi realizada a síntese de dez moléculas, sendo dois produtos finais inéditos. Todos os compostos apresentaram bons rendimentos e foram caracterizados por métodos espectroscópicos e espectrométricos, comprovando a formação das estruturas químicas. No planejamento dos novos inibidores propostos neste trabalho, foi empregado o conceito da Química Medicinal de “hibridação molecular”, que consiste na junção de grupos farmacofóricos que apresentam atividade inibitória estabelecidas frente ao HIV. Até o momento, a rota sintética mostrou-se viável e o cronograma do projeto está de acordo com o proposto. Após finalizada as etapas de síntese, serão realizadas a avaliação da atividade antirretroviral de todos os compostos finais inéditos, bem como o perfil citotóxico dos compostos.

Palavras-chave: HIV, AIDS, ITRNN, pirimidinonas, isatina.

Referências:

- [1] Li, TT. *et al.* Scaffold Hopping in Discovery of HIV-1 Non-Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors: From CH(CN)-DABOs to CH(CN)-DAPYs. *Molecules*, v. 25, n. 7, p. 1-16, 2020
- [2] Kaur, R. *et al.* Recent synthetic and medicinal perspectives of dihydropyrimidinones: A review. *Eur. J. of Med. Chem.* V. 132, p. 108-134, 2017
- [3] Boechat, N. *et al.* Isatin-derived compounds, use of te compounds for the treatment of AIDS and method of treatment using these compounds. WO 2017193180, 2017.

Novas tiouréias derivadas da primaquina com possível atividade antiplasmódica.

Costa, João^{1,2}; França, Rodolfo R. F.¹; Boechat, Núbia¹

1) Laboratório de Síntese de Fármacos – LASFAR, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. jbgj.costa@gmail.com; rodolfo.franca@fiocruz.br; nubia.boechat@fiocruz.br

2) Programa de Pós-Graduação em Farmacologia e Química Medicinal – PPGFQM, Instituto de Ciências Biomédicas – ICB, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, RJ, Brasil

A malária é a doença parasitária de maior morbidade e mortalidade em regiões tropicais e subtropicais, especialmente em países menos desenvolvidos, tornando-se um sério problema de saúde pública mundial. De acordo com a Organização Mundial de Saúde (OMS), em 2021, foram estimados 247 milhões de casos em 85 países nos quais a malária é endêmica e o número estimado de mortes por malária foi de 619 000 [1]. A malária é causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, dos quais, *P. falciparum*, *P. vivax*, *P. malariae*, *P. ovale* e *P. knowlesi* são responsáveis por infectar os seres humanos, através das picadas de fêmeas de mosquitos do gênero *Anopheles* infectadas. No Brasil, o *P. vivax* é a espécie predominante, estando relacionado com 83% dos casos de malária [2]. A cloroquina juntamente com a primaquina e a tafenoquina, são os únicos fármacos utilizados no tratamento desta infecção, entretanto, estas duas últimas causam hemólise grave em pacientes com deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) podendo levar o paciente ao óbito [3]. Este efeito adverso torna o uso desses fármacos restrito tornando urgente a busca por novas substâncias ativas que possam ser utilizadas no tratamento da malária causada pelo *P. vivax*. Neste sentido, dando continuidade as linhas de pesquisa desenvolvidas pelo nosso grupo, este projeto tem como objetivo a obtenção de 11 novos derivados da primaquina, que foram planejados através da modificação estrutural no grupamento amino terminal da primaquina, com a inclusão do grupo tiouréia observado em substâncias descritas na literatura com atividade antiplasmódica [4,5]. No momento a pesquisa encontra-se em andamento com ajustes de síntese; como resultado, espera-se que os derivados sejam obtidos por meio de uma rota de síntese simples, composta de uma ou duas etapas. Os derivados serão encaminhados para avaliação *in vitro* da citotoxicidade e da atividade antiplasmódica. Portanto, pretende-se alcançar a capacidade de bloquear a transmissão da malária em mosquitos.

Palavras-chave: *Plasmodium vivax*, malária, primaquina, glicose-6-fosfato desidrogenase, G6PD, síntese orgânica.

Referências:

[1] World malaria report 2021. Geneva: World Health Organization; 2021. Licence:CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

[2] Ministério da Saúde. Situação Epidemiológica da malária. Disponível em: < [\[3\] Silva, MCM; Santos, EB; Costa, EG; Filho, MGS; Guerreiro, JE; Póvoa, MM. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.* 2004, 37\(3\), 215-217.](https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/m/malaria/situacao-epidemiologica-da-malaria#:~:text=Do%20total%20de%20casos%20aut%C3%B3ctones,casos%20de%20mal%C3%A1ria%20no%20Brasil.> Acesso em: 27 set 2023.</p></div><div data-bbox=)

[4] Buchholz, M.; Hamann, A.; Aust, S.; Brandt, W.; Böhme, L.; Hoffmann, T.; Schilling, S.; Demuth, H.U.; Heiser, U. *J. Med. Chem.* 2009, 52, 7069-7080.

[5] Kang, I. J.; Wang, L. W.; Hsu, S. J.; Lee, C. C.; Lee, Y. C.; Wu, Y. S.; Yueh, A.; Wang, J. C.; Hsu, T. A.; Chao, Y. S.; Chern, J. H. *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2009, 19, 6063-6068.

Modificações Estruturais Visando a Melhoria da Solubilidade de um Composto Líder Nitrotriazólico com Potente Atividade antichagásica

Oliveira, Jonathan F. M.^{1,2}; Branco, Frederico S. C.¹; Bastos, Mônica M.^{1,2} Boechat, Núbia A.^{1,2}

1) Laboratório de Síntese de Fármacos, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. jmirandaescreve@gmail.com; frederico.castelo@fiocruz.br; mmacedobastos@gmail.com; nubia.boechat@fiocruz.br.

2) Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos (PPG-PTFM), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

Apesar de ter sido descoberta há mais de 100 anos, a doença de Chagas (DC) causada pelo *Trypanosoma cruzi*, permanece sendo a principal causa de morte por doença parasitária nas Américas. A DC possui duas fases patológicas, a aguda e a crônica e ocorre endemicamente na América Latina, vetorizada por triatomíneos.[1,2] Os únicos fármacos aprovados para o tratamento desta doença, nifurtimox e benznidazol, possuem diversos efeitos adversos e não promovem cura na fase crônica da DC.[3] A pesquisa de inibidores da biossíntese de ergosterol (IBEs) destaca-se na busca por novos fármacos devido aos resultados experimentais favoráveis alcançados com a aplicação de IBEs usados como antifúngicos. Ademais, Papadopoulou e colaboradores mostraram que o núcleo 3-nitro-1,2,4-triazol possui excelente atividade contra o *T. cruzi*, promovendo maior potência e menor toxicidade in vitro, quando comparado ao 2-nitroimidazol e ao 1,2,4-triazol.[4] A partir dessa linha, nosso grupo de pesquisa desenvolveu um novo composto líder 3-nitro-1,2,4-triazol que foi 3 mil vezes mais seletiva e mais que 4 mil vezes mais potente que o benznidazol.[5] Esta substância, por ser lipofílica e não apresentar grupos básicos ionizáveis em *pH* mais baixo, tem baixa solubilidade em água o que pode causar problemas de absorção oral. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho é a síntese de uma série de derivados triazólicos com potencial atividade antichagásica visando a melhoria da solubilidade deste composto líder. A metodologia consiste numa rota sintética em 4 ou 5 etapas, envolvendo a substituição nucleofílica aromática dos núcleos aromáticos com a *piperazina* ou *N-metilpiperazina* nos brometos de *arila* correspondentes, seguida de uma substituição nucleofílica com o 3-nitro-1,2,4-triazol. Após a obtenção dos intermediários desejados, será realizada uma redução com o *tetra-hidrobórato* de sódio (NaBH₄) e uma *metilação* com o *iodeto* de *metila* para a obtenção do produto final. Até o presente momento foram sintetizados os nossos 3 intermediários planejados em rendimentos satisfatórios entre 74 a 100% e todas as substâncias foram identificadas por Cromatografia Gasosa acoplada à Espectrometria de Massas (CG-EM). Além disso, estamos trabalhando na síntese do nosso primeiro produto final. Para concluir, é importante ressaltar que a rota sintética utilizada demonstrou-se efetiva para a obtenção dos intermediários formados em rendimentos considerados satisfatórios para o que fora planejado.

Palavras-chave: Doença de Chagas; Nitrotriazol; Inibidores da biossíntese do Ergosterol; Nitroreductase.

Referências:

- [1] Chagas, C. Nova entidade morbida do homem: resumo geral de estudos etiológicos e clínicos. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 3, n. 2, p. 219–275, 1911.
- [2] Coura, J. R.; Viñas, P. A. Chagas disease: a new worldwide challenge. Nature, v. 465, n. S7301, p. S6–S7, 2010.
- [3] Coura, J. R.; De Castro, S. L. A critical review on chagas disease chemotherapy. Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, v. 97, n. 1, p. 3–24, 2002.
- [4] Papadopoulou, M. V.; Bloomer, W. D.; Lepesheva, G. I.; Rosenzweig, H. S.; Kaiser, M.; Aguilera-Venegas, B.; Wilkinson, S. R.; Chatelain, E.; Ioset, J. R. Novel 3-nitrotriazole-based amides and carbinols as bifunctional antichagasic agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 58, n. 3, p. 1307–1319, 2015.
- [5] Menozzi, C. A. C. Síntese e Avaliação de Novos Derivados 3-nitro- 1,2,4-triazólicos como Possíveis Inibidores de *Trypanosoma cruzi*. [s.l.] Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2019.

Benznidazol como importante protótipo para a busca de novos análogos e derivados com potencial atividade contra *Trypanosoma cruzi*.

Nardy, Karen A.¹; Branco, Frederico S. C.¹; Boechat, Núbia A.^{1,2}; Soeiro, Maria de N. C.³

1) Laboratório de Síntese de Fármacos, Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. nardykaren@id.uff.br; frederico.castelo@fiocruz.br; nubia.boechat@fiocruz.br

2) Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos (PPG-PTFM), Instituto de Tecnologia em Fármacos - Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. nubia.boechat@fiocruz.br

3) Laboratório de Biologia Celular, Instituto Oswaldo Cruz - Fiocruz, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. soeiro@ioc.fiocruz.br

A Doença de Chagas (DC) é causada pelo parasito *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*), transmitida por insetos triatomíneos.[1] Estimam-se a existência de 6-7 milhões de infectados e 14 mil mortes anuais, tornando-a um problema de saúde global, sendo a doença parasitária que mais mata nas áreas endêmicas.[2] O benznidazol (BZN) e o nifurtimox (NFX) são os únicos fármacos aprovados para tratamento, sendo eficazes apenas na fase aguda.[1] O BZN contém em sua estrutura química o nitroheterociclo 2-nitroimidazol, com mecanismo de ação envolvendo a ativação pela enzima nitroredutase (TcNTR), gerando espécies tóxicas ao parasito.[3] Visando o desenvolvimento de novos tratamentos, os derivados com 3-nitro-1,2,4-triazol têm sido descritos com grande potencial, apresentando alta potência contra o *T. cruzi* e menor toxicidade *in vitro* que os contendo 2-nitroimidazol, sendo o mecanismo de ação similar ao deste último núcleo.[4] Assim, moléculas 3-nitro-1,2,4-triazólicas são promissoras na busca de novos agentes antichagásicos. Foram propostos 27 novos derivados 3-nitro-1,2,4-triazólicos baseados no BZN, envolvendo síntese, testes *in vitro* e *in vivo*, avaliação enzimática na TcNTR, potencial mutagênico e análise da relação estrutura-atividade. Por se tratar de uma doença negligência, a obtenção desses derivados consistiu em uma rota sintética simples, de duas etapas realizadas *one-pot*, consistindo na acilação de diferentes aminas, seguida de substituição nucleofílica com o 3-nitro-1,2,4-triazol. Utilizou-se o carbonato de potássio como base e uma mistura (1:1) de acetato de etila e água como solvente; na etapa seguinte, adicionou-se o catalisador de transferência de fase brometo de tetrabutilmetilamônio (TBAB). A síntese dos 27 derivados foi realizada com sucesso, em rendimentos na faixa de 25 a 100% e todos os derivados foram identificados por espectrometria de massas (EMAR-IES). Os compostos, após purificados, foram caracterizados por ressonância magnética nuclear (RMN) de hidrogênio, carbono e flúor (quando aplicável) e tiveram suas purezas determinadas por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE-UV). Até o momento, 16 produtos exibem pureza superior a 95% e aguarda-se o resultado dos demais. Desta forma, concluiu-se que o processo de síntese proposto se mostrou efetivo para síntese dos compostos planejados e que o processo de purificação dos mesmos, até o momento, foi capaz de fornecer essas substâncias com pureza suficiente para o envio às avaliações biológicas.

Palavras-Chave: Doença de Chagas; benznidazol; 3-nitro-1,2,4-triazol.

Referências:

[1] LIDANI, K. C. F. *et al.* *Frontiers in Public Health*, v. 7, n. 166, p. 1–13, 2019.

[2] DNDI. Doença de Chagas. Disponível em: <<https://dndial.org/doencas/doenca-de-chagas#visao-geral/>>. Acesso em: 27 de setembro de 2023.

[3] COURA, J. R. *Memorias do Instituto Oswaldo Cruz*, v. 110, n. 3, p. 277–282, 2015.

[3] PAPADOPOULOU, M. V. *et al.* Novel 3-Nitrotriazole-Based Amides and Carbinols as Bifunctional AntiChagasic Agents. *Journal of Medicinal Chemistry*, v. 58, p. 1307–1319, 2015.

Síntese de novas sulfonamidas derivadas da primaquina com potencial atividade antiplasmódica.

Santanna, Leonardo F.^{1,2}; França, Rodolfo R. F.¹; Branco, Frederico S. C.¹; Boechat, Núbia^{1,2}.

1) Laboratório de Síntese de Fármacos (LASFAR), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. leofsantanna@gmail.com; frederico.castelo@fiocruz.br; nubia.boechat@fiocruz.br.

2) Programa de Pós-Graduação em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos (PPG-PTFM), Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

A malária é um sério problema de saúde pública global que afeta principalmente países menos desenvolvidos, sendo a doença parasitária de maior morbimortalidade nas regiões tropicais e subtropicais a nível mundial [1]. É causada por protozoários do gênero *Plasmodium*, dos quais, *P. falciparum*; *P. vivax*; *P. malariae*; *P. ovale* e *P. knowlesi* são responsáveis por infectar os seres humanos via picadas de fêmeas de mosquitos infectados do gênero *Anopheles* [2]. O *P. vivax* é a espécie predominante no Brasil, responsável por 84,2% dos casos notificados em 2022 [3]. Apesar dos avanços na quimioterapia da malária vivax com o uso da primaquina e da tafenoquina, pacientes com deficiência da enzima glicose-6-fosfato desidrogenase (G6PD) não podem fazer uso destes fármacos devido à problemas graves de hemólise potencialmente fatal [4,5]. Desta forma, torna-se urgente o desenvolvimento de novas substâncias seguras que possam ser utilizadas no tratamento da malária causada por este parasito. Assim, em continuidade às linhas de pesquisa desenvolvidas pelo nosso grupo, o objetivo deste trabalho é a síntese e avaliação biológica de 15 novos derivados da primaquina, com possível atividade anti-*Plasmodium*. Os derivados foram planejados mantendo-se a estrutura da primaquina com a inclusão do grupamento sulfonamida que está presente na sulfadoxina, fármaco antimalárico, e em derivados desenvolvidos pelo nosso grupo que apresentaram resultados promissores. A obtenção dos derivados foi feita através de uma rota sintética de duas etapas realizadas *one-pot* utilizando condições reacionais de Schotten-Baumann. Inicialmente o difosfato de primaquina é tratado com carbonato de potássio em meio bifásico de acetato de etila e água. Em seguida, é realizada uma reação de substituição nucleofílica dando origem aos derivados propostos. Foram obtidos 15 derivados inéditos em rendimentos brutos que variaram de 86% a 100%. Os derivados foram identificados por meio de espectrometria de massas com ionização por eletrospray (EM-IES). Além disso, foram analisados em cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), na qual, cinco dos quinze derivados obtidos apresentaram área do pico maior do que 95%, estando aptos para avaliação biológica *in vitro*. Atualmente, os demais derivados encontram-se em processo de purificação. Agradecimentos ao LASFAR, CAPES, CNPq, FAPERJ e FIOCRUZ.

Palavras-chave: primaquina, derivados, síntese orgânica, malária, enzima G6PD, *Plasmodium vivax*.

Referências:

[1] WHO World Malaria Report 2022. <<https://www.who.int/publications/i/item/9789240064898>>. Acesso em 02 out 2023.

[2] MMV Medicines for Malaria Venture. <<https://www.mmv.org/malaria-medicines/five-species>>. Acesso 29 set 2023.

[3] Ministério da Saúde. Situação Epidemiológica da malária. Dados Interativos. Dados para Cidadão by Malária - Brasil. Disponível em: <https://public.tableau.com/shared/6JS9H2XQJ?:display_count=n&:origin=viz_share_link>. Acesso em: 29 set 2023.

[4] Silva, MCM et al. Clinical and laboratorial alterations in *Plasmodium vivax* malaria patients and glucose-6-phosphate dehydrogenase deficiency treated with primaquine at 0.50mg/kg/day. *Rev. Soc. Bras. Med. Trop.*, v. 37, n. 3, p. 215-217, 2004.

[5] Crockett, M; Kain, KC. Tafenoquine: a promising new antimalarial agent. *Expert. Opin. Inv. Drugs.* v. 16, n. 5, p. 705-715, 2007.

Síntese do Building Block Nitroimina da Cânfora na escala de Multigramas

Santos, Luciano da Silva¹, de Souza, Marcus Vinícius Nora¹

1) Laboratório de Síntese de Substâncias no Combate as Doenças Tropicais (SSCDT) - Instituto de Tecnologia em Fármacos – Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. lucianos@ufrj.br, mvndesouza@gmail.com

A nitroimina da cânfora, *N*-(1,7,7-trimetilbicyclo [2.2.1] heptan-2-ilideno) nitramida representa um Building Block, um intermediário chave que viabiliza a obtenção de diferentes classes de compostos derivados da cânfora em um período curto, preservando o seu núcleo e obtendo compostos que podem apresentar bioatividade e seletividade. A necessidade do aumento de escala é fundamental visando estudos futuros no desenvolvimento de novos fármacos [1,2]. O objetivo deste trabalho, consiste na síntese em escala de multigramas, utilizando a cânfora como material de partida, obtendo a nitroimina da cânfora. Inicialmente a cânfora reagiu com o cloridrato de hidroxilamina e (TEA) em EtOH sob refluxo para obtenção da oxima da cânfora. Em seguida, a oxima reagiu com nitrato de sódio e AcOH à 40°C obtendo a nitroimina da cânfora. As reações subsequentes foram conduzidas em escala multigramas, até atingir 100 gramas da cânfora. Na primeira etapa, a base (TEA), reagiu com o cloridrato, liberando hidroxilamina no meio reacional, o que facilitou a adição à carbonila. Após a formação da oxima, a solução de nitrato de sódio reagiu com ácido acético, resultando na formação de ácido nítrico, o qual se decompôs em óxido nítrico. A espécie eletrofílica, sofreu o ataque nucleofílico da imina da oxima, sendo obtido a nitromina. A série de reações multigramas, resultou a oxima, com rendimentos superiores a 60% e a nitroimina à 83%. A partir da nitroimina da cânfora, serão sintetizados novos derivados da cânfora, que posteriormente serão avaliados quanto a sua atividade biológica frente a diversas patologias.

Palavras-chave: Cânfora, Nitroimina, Síntese, Building Block

Referências:

- [1] Da Silva ET.; *et. al.* Camphor nitroimine: a key building block in unusual transformations and its applications in the synthesis of bioactive compounds. *Molecular Diversity*, 3463-3483 Jan 4, 2022
- [2] Da Silva, E.T.; *et. al.* Multigram-scale Synthesis of Building Block Nitro-imine Derivative by Using Classical Method and Ultrasound Irradiation and Conversion to Imino-alcohol Derivative, Using Camphor as Starting Material, *Letters in Organic Chemistry*, 17(3), 165-169, 2020.

Novos derivados 4-oxo-quinolínicos com possíveis mecanismos de ação multialvos contra *Mycobacterium tuberculosis*

Ferreira Mayara K. (PG)^{1,2}, Frederico S.C. Branco (PQ)¹, João C. M. Mafra (PQ)¹, Núbia Boechat (PQ)^{1*}

1) Laboratório de Síntese de Fármacos – LASFAR, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. mayara.ferreira.far@gmail.com; fredericoscb@gmail.com; joao.mafra@fiocruz.br; nubia.boechat@fiocruz.br,

2) Instituto de Ciências Biomédicas - ICB, Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, RJ, Brasil

A tuberculose (TB), é uma doença causada pela bactéria *Mycobacterium tuberculosis* (*Mtb*). [1] O tratamento longo, cheio de efeitos adversos, multirresistência bacteriana, alto índice de abandono e a co-infecção com o vírus HIV tornam a TB uma grave emergência global de saúde, é uma das dez maiores causas de mortes em países de média e baixa renda, sendo a segunda maior causa de morte por agente infeccioso. De fato, é a doença infecciosa que mais mata no planeta. [1] Desta forma, como continuidade da linha de pesquisa consolidada em nosso laboratório e visando contribuir para o desenvolvimento de novas opções terapêuticas mais eficazes e com menores limitações em relação ao tratamento atual da TB, este projeto propõe uma série de derivados quinolínicos e da isoniazida (INH), com possível mecanismos de ação multialvos, visando a melhora da potência antimicobacteriana, mitigação de desenvolvimento de resistência e a avaliação biológica quanto a capacidade inibitória do *Mtb*. [2,3] Neste trabalho, duas séries de derivados quinolínicos foram planejadas através da ferramenta de hibridação molecular e serão sintetizados por uma rota de três etapas que parte da acilação de isatinas com cloreto de cloroacetila em refluxo. Em seguida, esses intermediários serão submetidos à reação de abertura do anel com a INH. Finalmente, esses intermediários serão reagidos, em uma reação de substituição nucleofílica, com as 4-hidroxiquinolinas correspondentes para gerar os produtos finais. Até o presente momento, foi possível obter os intermediários quinolínicos e os intermediários através da reação de acilação das isatinas. Os intermediários acílicos serão submetidos à reação de abertura do anel com a INH. Finalmente, as isatinas serão reagidos, em uma reação de substituição nucleofílica, com as 4-hidroxiquinolinas correspondentes, para gerar as quinolinas finais inéditas. Estas etapas estão sendo executadas no momento. Como conclusão, os intermediários acílicos foram obtidos com rendimento na faixa de 80-90% e os dois intermediários quinolínicos com rendimento de 63-65% respectivamente. Os produtos finais estão sendo sintetizados e serão submetido a diferentes avaliações contra o *Mtb* e quanto à citotoxicidade em macrófagos e células hepáticas (HepG2) com o objetivo de se determinar seu potencial como agentes contra a tuberculose.

Palavras-chave: Tuberculose, *Mycobacterium tuberculosis*, quinolina, isoniazida, resistência, multialvo.

Referências:

[1] OMS - Organização Mundial da Saúde (OMS). Global Tuberculosis Report 2022.

[2] CASTELO-BRANCO, et al. New hydrazides derivatives of isoniazid against *Mycobacterium tuberculosis*: Higher potency and lower hepatocytotoxicity. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v.146, p. 529–540. 2018.

[3] PITTA, E., et al. Searching for New Leads for Tuberculosis: Design, Synthesis, and Biological Evaluation of Novel 2-Quinolin-4-yloxyacetamides. *Journal of Medicinal Chemistry*, v.59, n.14, p. 6709-6728. 2016.

Síntese e avaliação biológica de novas *n*- acilidrazonas benzimidazólicas como potenciais agentes antichagásicos

Maynard, Pedro¹; Ramos, Laís²; Carvalho, Samir¹ A.

1) Laboratório de síntese, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. pedrocori2004@gmail.com

2) Laboratório de Físico-Química de Materiais, Seção de Engenharia Química, Instituto Militar de Engenharia, Praça General Tibúrcio 80, 22290-270 Rio de Janeiro, Brasil. laisgomesramos@hotmail.com

A doença de Chagas (DCH), também conhecida como tripanossomíase americana, é uma doença tropical causada pelo protozoário *Trypanosoma cruzi* (*T. cruzi*). Acomete de 6 a 7 milhões de pessoas, colocando 75 milhões de pessoas em risco de contaminação, e levando a aproximadamente 10.000 mortes ao ano. A terapia antichagásica consiste na utilização de dois fármacos: o benznidazol, cujo nome comercial é Rochagan®, e o nifurtimox, comercializado como Lampit®, entretanto, este último teve seu uso descontinuado no Brasil. Ambos apresentam resultados satisfatórios na fase aguda da doença (> 60 %), porém baixa eficácia na fase crônica (10-20 %). Desta forma, torna-se evidente necessidade de novos fármacos mais eficientes. Tem-se como objetivo realizar a síntese de novos derivados benzimidazólicos contendo o núcleo *N*-acilidrazona, como novos padrões moleculares úteis na quimioterapia da doença de Chagas. A metodologia sintética empregada para a obtenção da série de produtos consiste na síntese de cinco etapas. Após isso, será feita a caracterização dos derivados *N*-acilidrazonas benzimidazólicas. Até o momento fez-se a síntese de 4 moléculas intermediárias. As moléculas apresentaram um ótimo rendimento e foram caracterizadas por métodos espectroscópicos e espectrométricos, comprovando a síntese da molécula. O planejamento do projeto baseou-se na utilização de uma ferramenta da Química Medicinal conhecida por hibridação molecular, envolvendo as porções benzimidazol e *N*-acilidrazona, os quais são núcleos potencialmente ativos frente a *T. cruzi*. Após a obtenção dos produtos, estes serão enviados para avaliação do perfil tripanocida “*in vitro*” nas formas de relevância clínica tripomastigota e amastigota de *T. cruzi*, utilizando protocolos consolidados na literatura.

Palavras-chave: Doença de Chagas, *Trypanosoma cruzi*, *N*-acilidrazonas, benzimidazol.

Referências:

- [1] CAPELINI, C.; CÂMARA, V. F.; VILLAR, J. D. et al. Synthesis, Antitrypanosomal and Antimycobacterial Activities of Coumarin *N*-Acyldiazonic Derivatives. *Medicinal Chemistry*, v. 17, n. 6, p. 630–637, 2021.
- [2] WHO, 2022. Neglected tropical diseases. Disponível em: https://www.who.int/health-topics/neglected-tropical-diseases#tab=tab_1. Acesso em: 05 out. de 2023.

Investigando a atividade moluscicida de derivados 3-aryl-2-cianoacrílicos com vistas ao controle do *Biomphalaria glabrata*

Hiller, Noemi de Jesus¹; Gonçalves, Rebeca Bianchini,¹ Gomes, Keyla Nunes Farias²; Teixeira, Guilherme Pegas²; Faria, Robson Xavier² e Martins, Daniela de Luna¹

1) Laboratório de Catálise e Síntese (LabCSI), IQ, Departamento de Química Orgânica, UFF, Niterói, RJ, Brasil
noemihiller@gmail.com, rebecabianchini.g@gmail.com, dlmartins@id.uff.br

2) Laboratório de Avaliação e Promoção de Saúde Ambiental (LABSA), Instituto Oswaldo Cruz (IOC/Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

A esquistossomose é uma protozoose causada por espécies do gênero *Schistosoma* e a segunda parasitose de maior impacto social do mundo. O controle dos hospedeiros intermediários faz parte das estratégias de combate da esquistossomose. [1] Todavia, o único pesticida aprovado para o controle de moluscos *Biomphalaria glabrata*, principal hospedeiro intermediário no Brasil, é a niclosamida, a qual apresenta casos de resistência e limitações. Consequentemente, o desenvolvimento de novos moluscicidas eficientes, estáveis à exposição ambiental e não tóxicos ao ambiente é altamente desejável. [1] No presente trabalho, prepararam-se análogos do ácido cinâmico contendo um grupo ciano na posição 2 da cadeia e diferentes substituintes no anel aromático, os quais foram avaliados frente ao *B. glabrata*. Esses compostos foram preparados através da reação de Knoevenagel entre benzaldeídos comerciais e derivados do ácido cianoacético (malononitrila ou cianoacetato de etila). Diferentes condições de reação (sem catalisador ou 30% NH₄OAc; sem solvente, com etilenoglicol ou água) foram avaliadas nas sínteses a fim de se obter a série de compostos NO. Em alguns casos, foi necessária lavagem com hexano e recristalizações para purificação dos produtos, os quais foram obtidos em rendimentos de 18 a 99% e caracterizados por IV, ¹H e ¹³C-RMN. NO-108 (X = CN; Ar = 4-OH-3MeOPh), NO-112 (X = CN; Ar = 2-MeOPh) e NO-118 (X = CN; Ar = 3-BrPh) apresentaram atividade de 100%, 44% e 44%, respectivamente frente ao *B. glabrata* adulto e mortalidade de 100% em 24 h com concentração de 40 mg/L nos embriões deste molusco. Apenas os compostos com X = CN apresentaram atividade para o molusco adulto. Através da reação de Knoevenagel, as nitrilas análogas do ácido cinâmico NO foram obtidas em 18-99% de rendimento e mostraram-se mais efetivos na fase embrionária do *B. glabrata*. Agradecimentos: FAPERJ (E-26/010.001861/2019), PROPPI-UFF (FOPESQ-2022), PPGQ-UFF.

Palavras-chave: cinamatos, nitrilas, moluscos, Knoevenagel, *Schistosoma*, esquistossomose.

Referências:

[1] Martins, D. L. et al. Molluscicidal activity of 3-aryl-2-hydroxy-1,4-naphthoquinones against *Biomphalaria glabrata*. Acta Trop., 231, 106414, 2022.

Híbridos do imatinibe com indolinonas: desenvolvimento de potenciais inibidores para o tratamento da Leucemia Mieloide Crônica

Vasconcellos, Valeska¹; Pimentel, Luiz Cláudio^{1,2}; Boechat, Nubia^{1,2}; Bastos, Monica^{1,2}

1) Laboratório de Síntese, Instituto de Tecnologia em Fármacos – Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

2) Programa de Pós-graduação Acadêmico em Pesquisa Translacional em Fármacos e Medicamentos -Farmanguinhos, Fundação Oswaldo Cruz, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. valeskaladi@gmail.com, mmacedobastos@gmail.com

A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é caracterizada pela presença de um cromossomo anormal denominado Philadelphia (Ph). A existência deste cromossomo faz com que o organismo expresse uma proteína híbrida BCR-ABL, e esta apresenta atividade de uma tirosina cinase anormal, sendo responsável pela patogênese da doença [1]. O mesilato de imatinibe foi o primeiro representante da classe dos inibidores de tirosina cinase BCR-ABL para o tratamento da LMC. Apesar do sucesso, o aparecimento de resistências motivou a busca por novos inibidores, sendo desenvolvida a segunda geração dos “tinibes”, que tem como representantes o nilotinibe, o dasatinibe e o bosutinibe [2]. Estes inibidores contornaram uma série de mutações; no entanto, houve relatos de eventos cardiotoxicos adversos associados ao uso destes fármacos [3]. O objetivo do projeto é a síntese, caracterização e a avaliação de nove híbridos do imatinibe com sunitinibe, planejados a partir da ferramenta da Química Medicinal, conhecida como hibridação molecular, associados a estudos de ancoramento molecular prévios. Para a primeira parte da molécula foi escolhido o esqueleto fenilaminopirimidina piridina (FAPP), que é o principal farmacóforo do imatinibe. Para a outra parte do híbrido foi utilizado um derivado da isatina (indolinonas), que está presente no sunitinibe. A metodologia de síntese proposta para a obtenção dos compostos-alvo consiste em uma síntese convergente com quatro ou cinco etapas reacionais. Até o momento, foi realizada somente a pesquisa bibliográfica das rotas sintéticas. Todos os compostos propostos neste trabalho foram planejados utilizando a ferramenta da Química Medicinal, conhecida por hibridação molecular, onde os grupos farmacofóricos empregados apresentam atividades antimieloproliferativas estabelecidas. Até o momento, foi realizada somente a pesquisa bibliográfica da rota sintética, de acordo com o cronograma proposto. Após a finalização das etapas de síntese, serão realizadas as avaliações da atividade antimieloproliferativa de todos os produtos inéditos.

Palavras-chave: imatinibe, sunitinibe, cinases, leucemia, câncer.

Referências:

[1] Burnmeister, T. *et al.* Patients' age and BCR-ABL frequency in adult B-precursor ALL: a retrospective analysis from the GMALL study group *Blood*, 2008, *112*(3), 918-919.

[2] Rossari, F.; Minutolo, F.; Orciuolo, E. Past, present, and future of Bcr-Abl inhibitors: from chemical development to clinical efficacy *J. Hematol Oncol*, 2018, *11*(84), 1-14.

[3] Santoro, M. *et al.* Cardiovascular Issues in Tyrosine Kinase Inhibitors Treatments for Chronic Myeloid Leukemia: A Review *Front. Physiol.* 2021, *12*, 675811.